

UNIVERSITE DE PARIS
FACULTE DE MEDECINE — NECKER - ENFANTS-MALADES

ANNÉE 1970

THÈSE

N°

21

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Claude MADELIN

Interne des Hôpitaux de Paris

Né le 17 Janvier 1940, à Saint-Fargeau Ponthierry (Seine-et-Marne)

Présentée et soutenue publiquement le

1970

Utilisation du test
de transformation lymphoblastique
dans la détection des allergies médicamenteuses
de l'enfant

Président : M. ROYER, Professeur

PARIS — 1970

UNIVERSITE DE PARIS
FACULTE DE MEDECINE — NECKER - ENFANTS-MALADES

ANNÉE 1970

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Claude MADELIN

Interne des Hôpitaux de Paris

Né le 17 Janvier 1940, à Saint-Fargeau Ponthierry (Seine-et-Marne)

Présentée et soutenue publiquement le

197

**Utilisation du test
de transformation lymphoblastique
dans la détection des allergies médicamenteuses
de l'enfant**

Président : M. ROYER, Professeur

PARIS — 1970



A MA FEMME

A MES ENFANTS, Alexandre et Grégoire

avec tout mon amour.

A MES PARENTS

MES BEAUX-PARENTS ET TOUTE MA FAMILLE

en témoignage de mon affection.

A MES AMIS

en témoignage de ma fidélité.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR Pierre ROYER

Professeur de Génétique Médicale

Médecin de l'Hôpital des Enfants Malades

En reconnaissance pour le grand
honneur qu'il me fait de vouloir
bien accepter la présidence de
cette thèse.

En témoignage de ma respectueuse
admiration pour ses travaux et
réalisation en Médecine Infantile.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551515_0045

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGÉ Jacques VIALATTE
Médecin de l'Hôpital des Enfants Malades

Qui a contribué pour une très grande part à ma formation pédiatrique.

Qui m'a appris, au cours de mon Externat et de mon Internat, par la qualité de son enseignement auprès du malade, l'allergologie infantile.

Qui a permis la réalisation de cette thèse en me permettant l'accès de ses dossiers allergologiques.

En témoignage de ma profonde reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGÉ Jean PAUPE

Qui m'a accueilli dans son laboratoire de pathologie expérimentale et immunologie du Centre Hospitalo-Universitaire Necker-Enfants Malades.

Qui m'a guidé et conseillé tout au long de ce travail.

En témoignage de ma grande reconnaissance et de ma respectueuse affection.

Qu'il y trouve le signe de mon profond attachement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR Daniel ALAGILLE

Médecin de l'Hôpital d'Enfants PARROT à BICETRE

qui m'a formé à la pédiatrie
par son enseignement clinique
fait d'une grande expérience.

par son mode d'analyse critique
et de déduction diagnostique et thé-
rapeutique.

par son exemple au contact du
malade et de son entourage.

et par son exigence de perfection
qui crée une médecine de notre temps.

En reconnaissance pour ce précieux enseignement.

En témoignage de mon attachement et de mon affectueuse grati-
tude.

A MES MAITRES D'EXTERNAT :

MONSIEUR LE PROFESSEUR Robert MERLE D'AUBIGNE
MONSIEUR LE PROFESSEUR Etienne BERNARD
MONSIEUR LE DOCTEUR Henri RUBENS-DUVAL
MONSIEUR LE DOCTEUR Robert SCHWOB
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE Marcel AUSSANNAIRE
MONSIEUR LE DOCTEUR Marcel MORIN
MONSIEUR LE PROFESSEUR Maurice LAMY
MONSIEUR LE PROFESSEUR Agrégé Jacques VIALATTE

A MES MAITRES D'INTERNAT :

MONSIEUR LE PROFESSEUR Maurice BARIETY
MONSIEUR LE DOCTEUR Raoul PERROT
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE Philippe SERINGE
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE Jacques VIALATTE
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE Jean PAUPE
MONSIEUR LE PROFESSEUR Daniel ALAGILLE
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE Victor COURTECUISSÉ

En hommage respectueux et en témoignage de ma reconnaissance pour l'enseignement que j'ai recueilli auprès d'eux.

A MES AUTRES MAITRES DES HOPITAUX :

MADAME LE DOCTEUR D. BRUNET
MADAME LE DOCTEUR M. COTLENKO
MADAME LE DOCTEUR J. DALAYEUN
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGÉ J.P. FREZAL
MONSIEUR LE DOCTEUR E. HABIB
MADEMOISELLE LE DOCTEUR M.L. JAMMET
MONSIEUR LE DOCTEUR B. MEYER
MADAME LE DOCTEUR J. PAUPE
MONSIEUR LE DOCTEUR R. PEROL
MONSIEUR LE DOCTEUR B. PLAINFOSSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGÉ J. RAMADIER
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGÉ J. REY

Avec mes remerciements respectueux.

A MES CONFERENCIERS D'EXTERNAT ET D'INTERNAT :

MONSIEUR LE DOCTEUR A. BERNADOU
MONSIEUR LE DOCTEUR M. INIGUEZ
MONSIEUR LE DOCTEUR P. VAYRE
MONSIEUR LE DOCTEUR J. WITVOET

En amical remerciement.

A MONSIEUR LE DOCTEUR Jacques CHARLAS

dont j'ai apprécié les grandes connaissances
pédiatriques, le don d'enseignement, le
dévouement permanent et la grande gentillesse.

En remerciement pour son aide précieuse et
son travail; en signe de ma fidèle amitié.

A tous ceux qui ont participé à ce travail et plus
particulièrement à MADAME LE DOCTEUR KLICKANOWA dont l'aimable
collaboration a été constante et utile.

En signe de ma profonde sympathie.

Utilisation du test de transformation
lymphoblastique dans la détection des allergies médicamenteuses
de l'enfant

I N T R O D U C T I O N

---:---:---:---:---:---:---:---:---:---

Le terme d'allergie utilisé pour la première fois par VON PIRQUET en 1906 signifie réaction différée :

La réponse allergique est donc un processus biologique ou physiologique naturel faisant suite à l'introduction dans l'organisme de substances antigéniques ou allergènes.

L'introduction de ces substances entraîne la stimulation élective de certaines cellules du système réticulo-endothélial, aboutissant à la multiplication des cellules réactives.

Dès qu'un sujet présente ce type de réponse, on peut considérer qu'il se trouve en état d'allergie à l'égard d'un allergène donné, et qu'il réagira ultérieurement à tout nouveau contact au même allergène, de manière différente de celle dont il a répondu à la première exposition.

Selon le type d'allergène, l'individu concerné, et les circonstances d'exposition, les réactions lui seront soit bénéfiques sous forme d'une immunité, soit nocives en provoquant des lésions tissulaires et un syndrome morbide.

Dans les deux cas, le même type de réaction est mis en jeu, et ce ne sont que les conséquences cliniques de ces réactions qui feront parler d'une réaction immune dans certains cas, ou d'une réaction d'hypersensibilité dans d'autres cas.

Le système réticulo-endothélial suscite une réponse allergique non seulement à l'égard d'antigènes de micro organisme, mais aussi à l'égard de constituants chimiques de toute macromolécule étrangère, ou plus précisément à l'égard de toute macromolécule qu'au sens immunologique, le sujet ne peut "tolérer",

parvenant au voisinage de ces cellules.

Ces phénomènes pourront être déclenchés aussi bien par des substances incomplètement digérées, absorbées par la paroi intestinale, que des médicaments absorbés ou injectés (produits chimiques, hormones, sang) pouvant se lier dans l'organisme de manière à former des antigènes proprement dits.

Actuellement on peut dénombrer près de 300 000 à 350 000 substances employées en thérapeutique. 1000 de ces substances sont couramment utilisées. Des réactions de sensibilisation sont connues pour environ la moitié d'entre elles.

Avec l'accroissement et la diversification de l'arsenal médicamenteux, la découverte de molécules originales ayant une activité biologique ou thérapeutique, avec l'augmentation rapide de la consommation médicale donc de la prescription médicamenteuse, avec l'introduction de ces mêmes molécules dans l'industrie alimentaire, végétale ou animale, la fréquence des accidents d'hypersensibilité médicamenteuse va s'accroître.

La gravité de ce type d'accident très variable, du simple prurit au grand choc anaphylactique, est cependant tout à fait imprévisible ; ce qui donne aux méthodes de détection et de prévention une importance capitale.

Nous nous sommes attachés dans ce travail, après avoir analysé les aspects cliniques et les mécanismes biologiques intimes de l'allergie médicamenteuse à étudier les méthodes de détection chez les malades suspects d'hypersensibilité et faire part de notre expérience du test de transformation lymphoblastique dans l'exploration immunoallergologique de ces malades.

Ce travail repose sur l'étude d'environ 100 allergènes testés chez 65 enfants de 4 mois à 15 ans suspects d'allergie médicamenteuse.

Les tests ont été pratiqués depuis 1969 dans le Laboratoire de PATHOLOGIE EXPERIMENTALE du Professeur Agrégé J. PAUPE, au Centre Hospitalo-Universitaire de Necker-Enfants Malades à PARIS.

B - Dans tous les cas l'Allergie Médicamenteuse se définit comme un conflit immunologique entre les molécules introduites dans l'organisme et les cellules immunologiquement compétentes du système réticulo-endothélial, entraînant leur "activation" avec ou sans libération d'anticorps.

La traduction clinique est liée à la réaction cellulaire propre, et à la libération de médiateurs chimiques, et de facteurs cytotoxiques, responsables des phénomènes pathologiques.

C - Les manifestations cliniques possibles sont multiples. Elles peuvent affecter la plupart des appareils, isolément ou simultanément :

a) Le revêtement cutané

- Erythèmes diffus de tous les types
- Erythèmes noueux
- Dermites sèches ou exsudatives
- Eruptions bulleuses
- Purpuras
- Oedèmes de Quincke.

b) Le revêtement muqueux

- Stomatites
- Gingivites
- Conjonctivites
- Blépharophtalmies
- Rhinites
- Vaginites ...

c) Le système vasculaire

- Vascularites diffuses ou nodulaires
- Thrombophlébites
- Spasmes vasculaires
- Vasoplégie

dont le choc anaphylactique représente l'accident majeur.

- d) L'Appareil Respiratoire
 - Oedème laryngé
 - Asthme
 - Syndrome de Loeffler
- e) Les Articulations
 - Arthralgies
 - Arthrites
- f) L'Appareil Digestif
 - Gastrites
 - Diarrhées
 - Syndromes entéro-colitiques
- g) Le système sanguin
 - Anémies hémolytiques
 - Anémies aplastiques
 - Agranulocytoses et Leucopénies
 - Thrombocytopénies
- h) Les reins
 - Protéinuries
 - Atteintes tubulaires
- i) Le foie
 - Nécroses hépatiques
 - Hépatites avec lésions parenchymateuses de gravité variable
- j) Le système nerveux

D - La gravité des accidents est imprévisible

Depuis les manifestations bénignes, tels les érythèmes, l'urticaire, le prurit, les conjonctivites, jusqu'aux manifestations gravissimes comme le grand choc anaphylactique ou dans certains cas l'Oedème de Quincke, tous ces accidents peuvent ouvrir la scène des manifestations cliniques.

Par ailleurs, la gravité des manifestations ne dépend pas de la dose du médicament utilisé; elle dépend, dans une certaine mesure, de la voie d'administration. Les voies parentérales, intramusculaires, sous cutanées, intradermiques, et surtout intraveineuses exposent plus à des accidents sévères que la voie digestive.

E - On peut classer les réactions allergiques selon plusieurs modes immunologiques différents.

1 - des Réactions subites, ou "immédiates" et des Réactions "accélérées".

Ces réactions apparaissent subitement quelques secondes à une heure après l'administration du médicament.

Il s'agit parfois de symptômes mineurs tels que palpitations, vertiges, étourdissements, sueurs, tressaillements de la langue, malaises mal définis, qui peuvent disparaître ou évoluer vers un collapsus vaso-moteur grave.

Parfois, par contre, le choc anaphylactique peut s'observer d'emblée sans signe d'appel.

2 - des Réactions allergiques tardives, comprenant des manifestations cutanées de type divers :

urticaires généralisés, érythème et exanthèmes morbilliformes, éruptions érythémato-vésiculeuse, érythème noueux, purpura, épidermolyse nécrotique ...

ou bien des manifestations du type de la "maladie sérique", s'accompagnant généralement de lésions cutanées urticariennes, de fièvre, de polyadénopathies, de douleurs et de gonflement articulaire.

Enfin l'Oedème de Quinke qui peut se voir soit au cours de réactions immédiates, soit en accompagnement de manifestations du type "Maladie sérique".

- 3 - Les dermites de contact, assez fréquentes, (streptomycine, pénicilline ...) provoquées par l'application locale, ou le contact externe, s'accompagnent rarement d'allergie de type immédiat, mais peuvent néanmoins entraîner une sensibilisation générale (avec accident de type immédiat possible dans un 2ème temps).
- 4 - Les manifestations plus rares, telles que les nécroses hépatiques, les lésions myocardiques, les lésions rénales passagères ou permanentes, les ischémies, les hémorragies intestinales, les anémies hémolytiques, semblent être provoquées par un mécanisme immunologique plutôt que par une toxicité.

F - La fréquence de ces accidents médicamenteux est diversement évaluée. Aucune étude n'a été faite sur la fréquence des manifestations d'allergie médicamenteuse dans leur ensemble.

Par contre, l'allergie à la Pénicilline a été étudiée par de nombreux auteurs, avec des enquêtes statistiques valables.

Il en ressort que la Fréquence de cette allergie médicamenteuse ne dépend pas de l'âge, bien que l'on retrouve le plus grand nombre de manifestations bruyantes chez l'adulte de 20 à 49 ans. Cela s'explique par la plus grande probabilité d'avoir été par 2 fois en contact avec l'allergène pénicilliné à cet âge.

En 1966, chez les Recrues Américaines, 1 % environ ont eu des réactions allergiques aux traitements par la pénicilline.

En 1962-64, WILLCOX, dépouillant les rapports de l'O.M.S. des traitements par pénicilline des maladies vénériennes, estime à moins de 1 % les réactions allergiques d'un type quelconque.

En ce qui concerne la mortalité, ce même auteur a trouvé 11 cas mortels (chocs anaphylactiques) parmi les 800.000 cas (1,4

pour 100.000) traités par la pénicilline pour maladie vénérienne; ce qui correspond au taux de mortalité de 2 pour 100.000, chiffre retrouvé pour l'ensemble de la population dans une étude faite en Suisse.

Si l'on ne tient compte que des malades hospitalisés, la fréquence des manifestations allergiques croît : pour la pénicilline, elle a été chiffrée à 7,8 % des malades d'un hôpital américain.

Ces différents chiffres correspondants aux résultats recueillis par les enquêtes faites dans divers pays.

On peut ainsi conclure, qu'en ce qui concerne uniquement l'allergie à la Pénicilline

- a) La Fréquence de la totalité des réactions allergiques se situe entre 0,7 % et 10 % selon les méthodes d'observation, la nature et la composition des groupes observés.
- b) le taux de mortalité se situe entre 0,0015 et 0,002 %.

G - Devant la Fréquence et la Gravité des accidents d'allergie médicamenteuse, il est essentiel d'en bien connaître les possibilités de Prévention.

Si une première prévention générale consiste en l'élimination des médicaments réputés allergisants chez les sujets connus pour être allergiques, il est dans la plupart des cas impossible de prévoir les réactions d'hypersensibilité médicamenteuse qui surviennent souvent sans antécédent personnel ou familial de maladie allergique. Il est par contre très important de rattacher à l'allergie médicamenteuse tel accident mineur, sans gravité, premier symptôme d'une hypersensibilité, contr'indiquant formellement la réutilisation du médicament incriminé. Si l'utilisation de la substance médicamenteuse allergisante se révèle capitale pour le malade, on pourra, au besoin, faire ap-

pel à des méthodes de désensibilisation spécifique, ou d'accoutumance progressive (WOLFROMM R.).

Tout l'intérêt des méthodes de détection de l'Allergie médicamenteuse est donc de rattacher à tel ou tel médicament la manifestation clinique d'appel, parfois intriquée dans les symptômes de la pathologie initiale.

molécules formées au cours des étapes de dégradation du médicament dans l'organisme.

L'exemple le plus connu, (LEVINE B.B.) est celui de la dégradation in vivo du radical acide 6-amino-pénicillénique, commun aux pénicillines naturelles et de synthèse, en acide Pénicillénoïque se fixant à une protéine pour former le groupe Pénicilloyl particulièrement antigénique.

Enfin l'Antigénicité d'un médicament peut être due :

- a) aux impuretés qui n'ont pu être totalement exclues lors de sa préparation (en particulier en ce qui concerne les substances protéiques extraites d'organes animaux).
- b) aux produits de dégradation apparus au cours de sa conservation, surtout lors de mauvaises conditions (durée prolongée, température trop élevée, humidité ...)

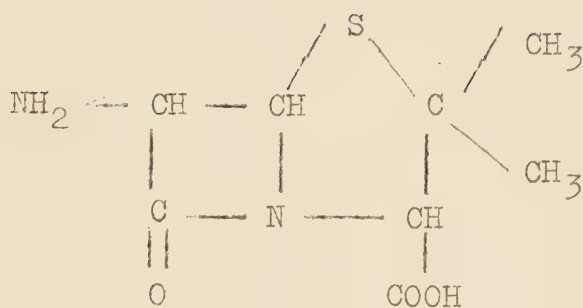
Dans tous les cas, c'est de la Nature chimique et de la configuration spatiale de la substance médicamenteuse que dépend la spécificité et l'intensité antigénique.

Cette spécificité est portée par une infime partie de la molécule, appelée déterminant antigénique.

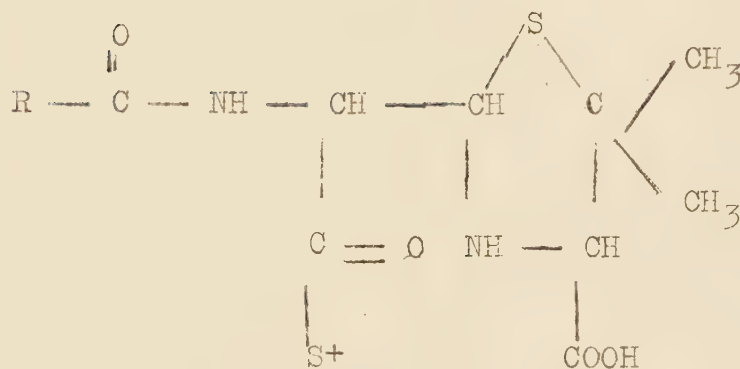
L'étude des déterminants antigéniques par les méthodes d'Hydrolyse enzymatique et chimique est capitale pour 3 raisons:

- a) elle permet de connaître le nombre de déterminants antigéniques juxtaposés sur une même molécule protéique, formant les groupes hapténiques.

Elle a ainsi permis de savoir que l'agencement de ces déterminants réglait en partie l'intensité des réactions de sensibilisation. Ainsi LEVINE et REDMOND ont montré que les groupes hapténiques Benzylpénicilloyles trivalents provoquent une réaction maximum et que la position des molécules d'haptènes dans la chaîne joue également un rôle.



Groupe pénicillénique
peu ou pas allergisant



Groupe Pénicilloyl
très allergisant

- b) elle permet l'identification de déterminants antigéniques, identiques ou voisins, communs à plusieurs médicaments, pouvant entraîner une sensibilisation croisée.
- Ainsi, il existe une sensibilisation croisée possible entre les six Noyaux dihydrothiaziques des céphalosporines et les cinq Noyaux Thiazolidiques des pénicillines.
- (J.P. Girard).

Un grand nombre de substances thérapeutiques appartiennent à un groupe chimique possédant un cycle aromatique et une amine primaire en position para : ainsi, la Procaïne et ses dérivés, des sulfamides anti-infectieux, des sulfamides anti-



diabétiques, des sulfamides diurétiques, l'acide paraaminobenzoïque et paraaminosalicylique.

Un individu sensibilisé à une substance de ce groupe réagit à la plupart des autres. Il peut même réagir à des substances non médicamenteuses comme les colorants Azoïques utilisé comme colorants vestimentaires (bas Nylon) ou colorants alimentaires.

- c) Elle permet enfin, la préparation d'Antigènes artificiels (Azo - conjugués protidiques) pouvant être utilisé dans des traitements de "désensibilisation".

Parmi ces antigènes médicamenteux, il est nécessaire de distinguer des Antigènes Forts suscitant, chez un malade donné, dès la première injection, la Formation d'une grande quantité d'anticorps. Et des antigènes faibles dont le pouvoir antigénique ne se manifeste qu'après des injections répétées, ou lors de l'utilisation de "véhicules retard".

B - La Réponse immunitaire

Quelle que soit leur voie d'administration, intraveineuse, intra-musculaire, sous cutanée, intra dermique ou digestive, les antigènes sont entraînés vers les Voies Lymphatiques, au niveau desquelles ils atteignent les cellules responsables de la réaction immunitaire.

Si l'antigène est injecté par voie veineuse, les modifications cellulaires essentielles intéressent en premier lieu les Macrophages de la rate et les cellules lymphoïdes spléniques. (Pour une faible part également les cellules réticulo-endothéliales hépatiques).

Si l'antigène est injecté localement, les premières réactions cellulaires s'observent au niveau des macrophages des sinus des ganglions satellites, et des cellules lymphoïdes ganglionnaires.

Le rôle des MACROPHAGES apparait essentiel dans l'initiation à la réaction immunitaire pour au moins trois raisons.

- 1°) ils interviennent pour détruire les substances antigéniques qu'ils captent par Phagocytose, Pinocytose et Micropinocytose. Leurs Enzymes Lysosomiales en assurent ensuite la dégradation, mais dans un certain nombre de cas libèrent des molécules à fort pouvoir antigénique.
- 2°) il semble que dans la plupart des cas, il participe à "l'activation" des cellules lymphoïdes en "sélectionnant" et en "concentrant" les sites antigéniques, et en les portant au niveau des membranes des cellules immunologiquement compétentes.
- 3°) Enfin, l'ARN des Macrophages incubé au préalable avec un antigène, mis secondairement en contact avec une culture de cellules lymphoïdes, est capable d'induire la réponse immunitaire.

Quoiqu'il en soit, la stimulation antigénique va provoquer :

- soit une réponse humorale pure.
- soit une réponse cellulaire pure du type hypersensibilité retardée.
- soit, et c'est le cas le plus fréquent, une réponse Mixte, humorale et cellulaire, associant une formation d'anticorps et des modifications cellulaires traduisant l'acquisition d'une mémoire immunitaire responsable des réponses secondaires ou anamnestiques.

1°/ Stimulation antigénique donnant lieu à une réponse humorale pure.

Elle semble exceptionnelle; elle a été réalisée expérimentalement chez la souris après injection de Polysaccharides pneumococciques purifiés de toute autre substance.

On observe alors le développement de Follicules lymphoïdes arrondis semblant se former uniquement à partir des Lymphocytes B dans la corticale des ganglions concernés, avec une zone périphérique faite de petits lymphocytes, et une zone centrale faite de lymphocytes jeunes et surtout de grandes cellules blastiques pyroninophiles. Ces cellules blastiques se multiplient activement (une division toutes les 6 à 10 heures). Il apparaît ensuite des cellules indifférenciées, plus petites, et dès la 48ème heure, il est possible de caractériser des Immunoglobulines (Ig M) dans les cellules blastiques et dans les cellules intermédiaires.

Puis on assiste à une différenciation dans un sens PLASMOCYTAIRE dans la Médullaire du ganglion, maximale du 4° au 6° jour.

Des Anticorps sont facilement mis en évidence dans les plasmocytes.

2°/ Stimulation Antigénique donnant lieu à une réponse Cellulaire Pure

C'est la Réponse-type dans les Phénomènes d'Hypersensibilité retardée.

Après injection d'Antigènes, on observe vers le 2°-4° jour, une prolifération blastique qui intéresse les petits lymphocytes (Petits Lymphocytes thymo-dépendants ou Lymphocytes T). Le siège de la prolifération est à la périphérie du ganglion (Zone paracorticale). Les cellules blastiques se différencient alors en petits lymphocytes sensibilisés tandis que la zone paracorticale se développe considérablement au point de réduire la médullaire du ganglion.

3°/ Stimulation Antigénique donnant lieu à une Réponse Mixte, humorale et cellulaire

C'est la réponse la plus fréquente, en particulier avec les antigènes protéiques, ou les haptènes fixés à des molécules protéiques comme le réalise la plupart des antigènes médicamenteux.

On constate alors une prolifération blastique analogue à celle des cas précédents, mettant en jeu, simultanément, les diverses zones intéressées :

- a) La différenciation plasmocytoïde de la médullaire est la plus précoce (Follicules Lymphoïdes de la pulpe rouge de la rate lorsqu'elle est intéressée).
- b) avec un décalage de 2 jours, la différenciation lymphocytoïde apparaît dans la zone paracorticale des ganglions (ou dans la pulpe blanche de la rate).

Il y a alors parallèlement :

- 1°) production de plasmocytes qui libèrent des anticorps circulants.

2°) production de lymphocytes T possédant, fixés sur leur membrane externe, des anticorps particuliers, synthétisés par la cellule, support de la mémoire immunitaire.

Ces lymphocytes vont devenir circulants. Ils ont une durée de vie très longue. Ce sont eux qui seront prêts à réagir lors d'une seconde intrusion dans l'organisme de l'antigène contre lequel ils sont sensibilisés.

Cette Réaction secondaire, plus rapide, plus brutale que la première, survenant aussi bien dans la circulation générale, aux points d'injection, qu'au niveau des centres Lymphoïdes, entraîne une Activation des Lymphocytes sensibilisés : cette activation, mitogène et blastogène, transforme le petit Lymphocyte en grands Lymphoblastes qui vont se multiplier d'où le Nom de transformation Lymphoblastique. L'évolution cytologique, ultra structurale biochimique et enzymologique qui s'opère au cours de la transformation sera étudiée dans un chapitre prochain.

Ainsi, il semble bien que les Lymphocytes soient au centre de la réponse immunitaire :

- ils interviennent directement dans les réactions d'hypersensibilité retardée.
- ils contrôlent la synthèse des anticorps soit par transformation en plasmocytes, soit en activant les plasmocytes préformés.

4°/ Les Anticorps Allergiques

Deux variétés d'anticorps sont rencontrés chez les sujets allergiques :

- a) Les Réagines, anticorps dermo sensibilisant (S.S.A. des Anglo-Saxons), sont des Ig E, thermolabiles, de constante de

sédimentation variant de 7 à 13 s et incapables de traverser la barrière placentaire.

Il n'existe pas de Réagine à la naissance du fait de l'absence d'exposition aux antigènes, et surtout de l'incompétence du système immunologique.

- Les Réagines sont circulantes et capables de se fixer sur certains tissus (organes cibles, ou organes choc) où elles détermineraient la localisation du Foyer allergique pathologique.
- Elles se fixent ainsi sur la peau où les tests cutanés (cuti, intradermo réaction) peuvent les détecter.
- Cette propriété de se fixer de manière durable aux tissus, les sensibilisant pendant plusieurs semaines est propre aux réagines qui se différencient en cela des anticorps anaphylactiques (ces derniers disparaissant du lieu d'injection en 48 heures).
- Les Réagines vont former avec les antigènes spécifiques réinjectés un complexe antigène-anticorps responsable en grande partie des phénomènes pathologiques observés.

Ces lésions tissulaires vont d'une simple réaction inflammatoire réversible jusqu'à la Nécrose tissulaire.

Elles se produisent par l'intermédiaire de mécanismes multiples :

- Libération d'Histamine
de Sérotonine
d'Acétylcholine
de polypeptides (tels que la
Bradykynine, le S.R.S.)
de l'héparine
- Activation du Complément
- Lésions Vasculaires ...

- b) Les Anticorps Bloquants (B.A. des Anglo-Saxons) sont des Ig G, thermo stables, de constante de sédimentation 7 S, capables de traverser la barrière placentaire; mais uniquement circulants, ne se fixant pas sur les cellules.

On discute de leur analogie ou de leur similitude avec les anticorps dits hémagglutinants, c'est-à-dire avec les anticorps mis en évidence par les réactions d'hémagglutination passive au cours des états allergiques (Notamment au cours de l'allergie à la pénicilline).

Dans certains cas, en effet, un parallélisme a été constaté entre le titre d'anticorps bloquants et les titres en anticorps hémagglutinants.

La Fonction des anticorps bloquants serait d'inhiber l'apparition des réactions systémiques ou anaphylactoïdes générales, lorsque les antigènes sont administrés en injection. Non pathogènes, ils viendraient "bloquer" les sites antigéniques, ayant une plus grande affinité pour les antigènes que les Réagines.

Si les réagines sont retrouvées seulement chez les sujets sensibilisés, les anticorps bloquants pourraient être produits chez tout individu, allergique ou non, après injection d'Antigène.

En cas d'injection d'Antigènes, le taux des anticorps bloquants s'élève en quelques semaines à un taux d'autant plus élevé que l'injection est répétée régulièrement.

Si l'injection d'antigène est stoppée, dans 90 % des cas, on observe une diminution progressive du taux d'anticorps bloquants en 4 mois.

Mais dans 10 % des cas, ce titre persiste élevé pour une période variable (jusqu'à 2 ans).

Le taux des anticorps bloquants produit varie d'un individu à l'autre, dépendant en partie :

- de la dose d'antigène,
- de la voie d'administration
- de l'utilisation d'adjuvant
- de facteurs génétiques.

La tolérance à dose progressivement élevée d'un antigène s'explique donc par la présence d'anticorps bloquants entraînant un effet protecteur contre les réactions de type anaphylactoïde.

Les anticorps bloquants agissent comme une immunisation transitoire.

Pour certains auteurs, par contre, il n'est pas impossible que le complexe Antigène - Anticorps bloquants soit dans certains cas à l'origine de Phénomènes pathologiques du type de la maladie sérique.

phénicol, sels d'or, dérivés d'Hydantoïne).

- Dans tous les cas, l'enquête clinique doit retrouver la séquence exacte entre la Maladie causale, la prise médicamenteuse et les symptômes d'hypersensibilité éventuelle.

- L'Enquête allergologique peut ramener des arguments indirects, sachant la plus grande fréquence de ces manifestations chez les sujets ayant des antécédents personnels ou familiaux de maladie allergique.

B - Cette enquête peut être complétée par des tests d'exploration du terrain allergique, comme la réaction au Latex-Histamine (Mikol et Renou).

Enfin un utile renseignement peut être apporté par la présence d'une Eosinophilie élevée au cours même de l'aggression antigénique. Elle est retrouvée dans environ 70 % des cas mais disparaît lors d'une poussée infectieuse bactérienne.

C - Enfin de nombreux tests spécifiques ont été utilisés ces dernières années pour tenter de détecter un état d'allergie médicamenteuse.

Ces tests peuvent être classés en tests pratiqués "in vivo" et tests pratiqués "in vitro".

I - Les tests "in vivo" comprennent :

1. La cuti réaction
2. l'intradermo-réaction
3. le transfert passif ou Réaction de PRAUSNITZ-KÜSTNER

1 - La technique de cuti réaction est simple. Elle consiste à pratiquer une série de scarification où l'on applique l'allergène incriminé à des dilutions variables. Lorsque la réaction est positive, on observe à l'endroit de l'application de la substance médicamenteuse :

Une papule ortiée, prurigineuse, entourée d'un halo Rouge et sillonnée à la périphérie par des petits lymphatiques en forme de pseudopodes.

Cette méthode est simple, mais doit être pratiquée avec grande prudence en utilisant des allergènes en dilution importante car elle peut être très dangereuse, pouvant déclencher des accidents de type anaphylactique. Par exemple, chez un sujet sensible à la pénicilline, l'introduction de ce médicament qui est un antigène complet sous forme de peniciloyl - protéine, soit par scarification cutanée, soit par intradermo-réaction peut provoquer des réactions générales. De nombreux auteurs proscrivent pour cette raison ces tests cutanés.

Enfin il semble que ce test soit dans un certain nombre de cas infidèle car les allergènes médicamenteux sont souvent des antigènes incomplets.

2 - à l'intra-dermo-réaction, en dehors d'une plus grande sensibilité, on reproche les mêmes inconvénients majeurs d'absence d'inocuité : un certain nombre d'auteurs anglo-saxons prônent les avantages d'une technique intermédiaire, le "Prick-test" qui consiste à déposer une goutte de l'allergène dissous sur le derme et à piquer le derme à travers la goutte à l'aide d'une aiguille fine. Il semble que cette technique soit plus inoffensive et puisse rendre des services chez l'enfant.

3 - Le transfert passif ou Réaction de PRAUSNITZ-KÜSTNER

Cette réaction consiste à injecter, dans le derme d'un sujet réactif, une petite quantité d'un sérum du malade allergique qui contient des anticorps sensibilisants ce qui sensibilise passivement une petite aire du tissu.

Lorsque 24 heures après on injecte au même lieu, l'antigène correspondant, on voit se développer, dans le cas où la

réaction est positive une papule entourée d'un halo érythémateux.

La Réaction de PRAUSNITZ-KÜSTNER est une réaction très spécifique; elle démontre la présence de Réagines dans le sérum du malade. Elle ne présente pas de danger. Mais elle est infidèle et certains médicaments histamino-libérateurs exposent à des erreurs par excès.

Toutefois, chez les sujets allergiques à des allergènes dangereux ou chez les Nourrissons, cette technique peut avoir une application pratique.

Enfin, il faut signaler que l'on a pu transférer une hypersensibilité de type retardée à un receveur initialement sain, par un mélange de leucocytes prélevés chez un sujet sensibilisé. Ce transfert très utilisé en immunologie expérimentale ne présente pas d'intérêt pratique dans la détection des allergies médicamenteuses.

II - Les Tests "in vitro"

Le Danger de sensibilisation, et surtout d'accidents graves d'Hypersensibilité qu'entraînent les tests in vivo, a fait rechercher des méthodes de détection de l'allergie médicamenteuse réalisables "in vitro", plus sensibles, plus fidèles, reproductibles, et d'une totale innocuité :

Les principales méthodes utilisées actuellement sont :

- le test d'hémagglutination passive
- le test d'inhibition de la migration des macrophages
- le test d'immunocyto-adhérence ou test de la "rosette"
- l'anaphylaxie passive in vitro, par le test de sensibilisation in vitro de l'iléon de Singe (Schultz - Dale).
- le test de dégranulation des basophiles au test de Shelley.
- et enfin, le test de transformation lymphoblastique.

1 - Le test d'héماغglutination passive

Il réalise une visualisation du conflit antigène - anticorps par une héماغglutination.

En cas de sensibilisation à la pénicilline, on lave et on incube des héματος avec de la pénicilline, cristallisée, afin d'obtenir une fixation de l'antigène sur ces héματος.

Celles-ci sont ensuite mises en présence du sérum à tester. Si ce dernier contient des anticorps antipénicilline, on obtiendra une agglutination passive des héματος (Radermecker)

Cette technique ne met pas en évidence des anticorps sensibilisants ou réagines, mais des anticorps héماغglutinants probablement non sensibilisants - elle n'explore pas l'hypersensibilité retardée.

Il semble que dans environ 30 % des cas, l'héماغglutination soit négative chez des sujets allergiques à la Pénicilline - et que dans un nombre de cas appréciable, le test soit positif chez des sujets non allergiques, ayant reçu de la pénicilline sans incident. Il semble donc qu'il faille tenir compte de ce test que comme un test d'orientation (LAUGIER et coll.)

2 - Le test d'inhibition de la Migration des Macrophages

Ce test consiste en l'étude de la migration en tube capillaire des Macrophages présents dans un culot leucocytaire prélevé sur un malade suspect d'allergie médicamenteuse.

L'étude de la migration sous incubation, est faite en l'absence et en présence de concentrations variées de l'antigène incriminé.

Les cellules témoins manifestent une mobilité importante ; par contre la migration des macrophages sensibilisés est partiellement ou totalement inhibée.

Cette propriété est due à la libération pour les lymphocytes "activés" d'une substance effectrice appelée M.I.F. ou Facteur inhibant la migration des macrophages, apparaissant après 24 heures d'"activation" des lymphocytes. Il s'agit d'une substance de nature protéique de poids moléculaire 70.000.

Ce test a été utilisé dans l'exploration des sujets allergiques à la pénicilline. Il ne semble explorer que les Hypersensibilités retardées. Il n'a pas été retrouvé de corrélation entre l'indice de migration et le taux des anticorps circulants (GIRARD 1968).

3 - Le Test d'Immunocyto-adhérence ou test de la Rosette

Des lymphocytes de sujets sensibilisés à un médicament sont isolés et incubés avec des Erythrocytes de mouton, formolés et revêtus de l'antigène incriminé.

Il se produit une agglutination des Erythrocytes autour de chaque cellule immuno-compétente donnant une image en "Rosette" (ZAA - LBERG) (NOTA et coll.) (BIOZZI et coll.). Cette agglutination est due à des anticorps circulants fixés à la surface des cellules lymphoïdes.

Le pourcentage de "Rosettes" par rapport au nombre de cellules lymphoïdes étudiées est comparé au pourcentage avec des cellules d'un sujet témoin.

FREI et GRUCHAUD ont montré que la quantité d'anticorps circulants évalués par ce test, interviendrait dans le nombre et l'intensité des manifestations allergiques.

Le phénomène d'immunocyto-adhérence n'explore pas l'Hypersensibilité retardée.

4 - L'Anaphylaxie Passive in vitro par le test de sensibilisation in vitro de l'Iléon de Singe, de SCHULTZ-DALE.

Cette méthode met en évidence les anticorps humoraux chez

des sujets allergiques à tel ou tel médicament.

L'Iléon de Singe est sensibilisé par du sérum de sujets allergiques à une substance médicamenteuse (les anticorps humoraux présents dans ce sérum se fixent sur cet organe).

L'Iléon sensibilisé est ensuite lavé, puis relié à un système d'enregistrement et placé dans une solution de thyroïde à laquelle on ajoute l'antigène incriminé. L'Iléon présente des contractions isométriques provoquées par l'Histamine libérée par le conflit antigène-anticorps.

Cette technique serait sensible et spécifique dans la détection des anticorps sériques circulants, non fixés (GIRARD et coll. - 1967) (LEVIN 1966) (DE WECK 1964).

5 - Le Test de Dégranulation des basophiles - test de SHELLEY

En 1961, SHELLEY et JUHLIN ont observé "in vitro", que les cellules polynucléaires basophiles subissent, chez les patients allergiques à la Pénicilline, des modifications structurales caractéristiques lorsqu'elles sont mises en présence de l'allergène pénicilliné :

Gonflement, modification des granules, apparition de pseudopodes et extrusion des granules aboutissant à une dégranulation qui coïncide avec une libération d'histamine responsable des signes cliniques de l'allergie.

Ces mêmes auteurs étudient alors la dégranulation des basophiles de Lapins mis en présence du sérum à tester et de l'antigène suspecté. Ils obtiennent des résultats concordants - et c'est cette méthode qui est utilisée dans le "test de dégranulation des basophiles".

Ce test permet la détection des anticorps circulants de type réaginique :

un certain nombre de critiques lui sont opposées :

- une technique très délicate, la cellule basophile de lapin se dégranulant parfois de manière non spécifique (agression).

- le nombre de basophiles à observer est souvent faible.

- par ailleurs des erreurs par excès peuvent être dues à une hypersensibilité des cellules à certains composants sériques non spécifiques.

- Dans les allergies médicamenteuses, il est souvent négatif deux ans après les premiers accidents.

enfin, le test de SHELLEY n'explore pas les phénomènes d'allergie de type tissulaire.

6 - Le test de transformation lymphoblastique

explore par contre l'Hypersensibilité des cellules lymphoïdes immunologiquement compétentes, responsables les unes de la production des anticorps, les autres de la mémorisation et du déclenchement du processus d'activation lymphoblastique, phénomène central dans l'allergie tissulaire retardée.

Nous allons étudier successivement l'historique de ce test, son application à l'allergie médicamenteuse, et les modifications cytologiques, ultrastructurales, biochimiques et enzymatiques qui s'opèrent lors de l'activation des petits lymphocytes sensibilisés.

V - LE TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

A - Historique

La propriété que possèdent les petits lymphocytes de se transformer en cellules blastiques a été découverte par hasard en 1955 par OSGOOD et KRIPPAEHNE alors qu'ils tentaient de cultiver des lymphocytes et utilisaient la Phytohémagglutinine pour éliminer les hématies de leur milieu de culture.

La Phytohémagglutinine provoque, in vitro, la transformation d'au moins 70 % des lymphocytes périphériques en cellules blastiques douées d'un pouvoir mitotique intense.

La découverte des propriétés de la Phytohémagglutinine P.H.A., et leurs applications aux cultures de Lymphocytes, a poussé les chercheurs à objectiver un effet blastogène et mitogène identique avec d'autres substances antigéniques.

En 1963, un certain nombre d'auteurs (PERMAIN, SHRECK, MARSHALL, LOWLING, WITTEN) obtiennent cet effet avec de la tuberculine purifiée sur des cultures de lymphocytes de sujets à réaction tuberculinique positive.

Dès 1963, HIRSCHORN et coll. cultivent des Lymphocytes en présence de Pénicilline et appliquent cette méthode à la recherche de l'hypersensibilité à la pénicilline.

En 1967, GILL fait une mise au point des travaux sur la multiplication des lymphocytes in vitro, leur possibilité de transformation spontanée, les relations entre manifestations cliniques et résultats des cultures chez des sujets présentant une hypersensibilité médicamenteuse.

La même année, en 1967, HALPERN et coll. publiant les résultats de leurs travaux sur les cultures lymphocytaires, mettent au point la méthode d'application pratique du test de transformation lymphoblastique dans la recherche de l'allergie médicamenteuse.

Depuis cette date de très nombreux travaux sont publiés, de tests réalisés avec des substances médicamenteuses variées, antibiotiques anesthésiques, produits iodés ... etc.

Le test de transformation devient une méthode privilégiée dans la détection "in vitro" des allergies médicamenteuses.

Parallèlement des travaux théoriques sur "l'activation" et la transformation du Lymphocyte sont effectués :

- incorporation de Thymidine tritiée dans les cultures de lymphocytes (TAYLOR 1963) (HOLLAND et MAUER, VISCHER en 1964).

- Etude ultrastructurale dynamique (HALPERN 1968).

- Enfin des études biochimiques, enzymologiques plus récentes, faites par les chercheurs américains (HIRSCHORN - WAITHE ... etc...).

Tous ces travaux ont permis de comprendre, ou du moins d'aborder, les mécanismes intimes de la stimulation antigénique au niveau des cellules immunologiquement compétentes, et la "révolution" cellulaire qui succède à leur "activation".

ETUDE CYTOLOGIQUE DE LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

1 - EVOLUTION MORPHOLOGIQUE AU MICROSCOPE OPTIQUE

A - Le petit lymphocyte est une cellule ronde, de petite taille, 6 à 8 μ de diamètre. Il possède une mince couronne cytoplasmique peu visible, car prenant mal la coloration.

Le noyau est rond; il est volumineux occupant les 9/10^e de la cellule. Il renferme une abondante chromatine "en mottes", dont les masses chromatiniennes éparses, mal limitées, fondues les unes dans les autres ne permettent pas de distinguer un réseau chromatinien.

Assez souvent, on devine une ou plus rarement deux zones nucléolaires plus claires, à contour mal limité.

B - Le moyen lymphocyte est rond, ou ovale, de 10 à 13 μ de diamètre. Son protoplasme est plus important que chez le petit lymphocyte; il est d'une teinte bleu intense avec parfois un halo péri nucléaire plus clair; sa structure est très finement grenue ou réticulo-granuleuse.

Son noyau est rond ou ovale, présentant parfois une encoche peu profonde ou une dépression lui donnant la forme d'un haricot. Les bords du noyau semblent renforcés. La chromatine est mieux visible, mais dense, en plusieurs masses. Le ou les 2 nucléoles sont plus fréquemment visibles.

C - Les modifications morphologiques du petit lymphocyte sont importantes à connaître pour permettre une identification certaine des cellules transformées. Identification dont dépend la lecture optique du test de transformation lymphoblastique.

L'aspect dynamique de la transformation lymphoblastique a

été bien étudié en microscopie à contraste de phase, et en microcinématographie. Les études morphodynamiques portent essentiellement sur des lymphocytes transformés en présence de Phyto-hémagglutinine qui réalise les plus "belles" transformations lymphoblastiques.

L'évolution cytologique est la suivante :

1. A la première heure, on trouve, dans la culture les petits et moyens lymphocytes gardant leurs caractéristiques propres.
2. A la 2ème heure, la P.H.A. entraîne une agglutination des lymphocytes, en agglutinats d'une cinquantaine de cellules en moyenne. Ces agglutinats sont mobiles du fait de la mobilité des cellules périphériques. Il existe cependant quelques lymphocytes libres, émettant des pseudopodes à l'extrémité desquels se forment des vacuoles de Pinocytose.
3. Dès la 24ème heure, des cellules de transition entre le petit lymphocyte et le lymphoblaste apparaissent. Le rapport nucléocytoplasmique de ces cellules s'abaisse (0,3 pour 0,7 dans les petits lymphocytes). La chromatine perd son aspect pachychromatique et devient granuleuse; le renforcement périphérique du noyau disparaît - de nouveaux nucléoles de densité optique modérés apparaissent - Le noyau devient franchement ovoïde ou réniforme.
4. A la 48ème heure, les petits et grands lymphocytes sont moins nombreux, souvent agglutinés; certains lymphocytes ont un aspect franchement pycnotique.

Par contre, on retrouve :

- A - d'une part des cellules intermédiaires
- de 12 à 15 μ de diamètre
 - au rapport nucléocytoplasmique élevé
 - un gros, et souvent plusieurs nucléoles franchement visibles

- une chromatine devenue plus fine
- un cytoplasme franchement bleu à la périphérie, avec une coloration plus pâle, semi-lunaire, autour du noyau.

B - d'autre part, de nombreuses cellules blastiques facilement reconnaissables par :

- leur grande taille, de 15 à 30 μ de diamètre
- un rapport nucléo cytoplasmique moyen
- un cytoplasme abondant, très fortement basophile, avec souvent, un croissant clair péri nucléaire bien individualisé
- contenant souvent quelques vacuoles vides
- un noyau rond, ovoïde ou même parfois muriforme, souvent excentré
- le noyau est rouge-violet à la coloration de May-Grünwald-Giemsa, contrastant avec l'aspect bleu foncé du noyau des lymphocytes
- la chromatine est fine, bien dessinée
- il existe plusieurs nucléoles, volumineux, nettement visibles.

C - Enfin, des cellules en mitose

Ces mitoses peuvent intéresser les cellules intermédiaires, ou les grandes cellules blastiques.

La durée moyenne d'une mitose a été évaluée à 1 h.30.

Elles peuvent réaliser toutes les images de mitoses possibles et sont toujours facilement reconnaissables.

5. A la soixante douzième heure, les cellules blastiques représentent 70 à 75 % du nombre des lymphocytes mis en culture. On considère que tous les lymphocytes immunologiquement compétents présents dans le sang circulant prélevé se sont transformés.

Le pourcentage des cellules en mitose est alors de 5 à 10 %.

Le cytoplasme des lymphoblastes se vacuolise et si l'on poursuit la culture plus de 4 à 5 jours une lyse cellulaire se produit, intéressant en premier lieu les grandes cellules lymphoblastiques.

6. Avec les autres antigènes non spécifiques (concana-valin A, Pokeweed mitogen, streptolysine, SAL., antiglobuline γ '), les étapes de la transformation sont à peu près identiques.

- Avec les antigènes spécifiques (antigènes médicamenteux en particulier), la transformation est plus lente.

- Les premières cellules intermédiaires apparaissent à la 48ème heure. Le nombre maximum de cellules blastiques est atteint vers le 4^o - 5^o jour. Le taux de transformation est toujours nettement inférieur. Les mitoses sont tardives et rares (0,5 à 1 %). Ces différences sont dues à la spécificité des lymphocytes sensibilisés à l'égard de l'antigène déterminé, qui seuls vont réagir en présence de l'antigène, et se transformer.

2 - ETUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

Plusieurs travaux ont porté sur l'évolution ultrastructurale du Lymphocyte au cours de sa transformation. Ces études ont comporté soit l'utilisation du microscope électronique seul, soit son utilisation couplée avec celle de l'autoradiographie (thymidine tritiée).

Citons les travaux de COOPER et INMAN (1964) de CHESSIN et coll. (1966), de HALPERN et coll. (1968).

A - ULTRASTRUCTURE DU LYMPHOCYTE

Elle est relativement simple :

- Le Noyau se compose de 2 structures principales; l'une dense, hétérochromatine marginant la membrane; l'autre moins dense mais à réseau serré. Il n'y a pas de Nucléole identifiable. La chromatine marginale est interrompue en plusieurs points. La zone centrale plus claire est alors directement en contact avec la membrane nucléaire.

- Le cytoplasme, dense également, contient essentiellement des ribosomes libres. L'appareil de Golgi est rudimentaire.

Les mitochondries peu nombreuses et de petite taille contiennent un matériel compact estompant le dessin des crêtes qui paraissent, par ailleurs peu développées. Donc le cytoplasme est pauvre en organites de synthèse; le petit lymphocyte est une cellule incapable de synthétiser des protéines en abondance.

B - ULTRASTRUCTURE DU LYMPHOBLASTE

Elle présente une complexité beaucoup plus grande.

- Le Noyau renferme une chromatine dense de structure granuleuse homogène. La chromatine "marginée", typique du petit lymphocy-

te, a complètement disparu. Les divers constituants du ou des nucléoles peuvent être facilement observés :

La "pars Fibrosa", zone fibrillaire très dense qui serait composée d'ARN lourd.

La "pars Amorpha", représentée par de petites plages plus claires, arrondies.

La chromatine nucléolo-associée pénétrant plus ou moins dans cet ensemble.

La "pars granulosa", constituant granulaire restant localisé plutôt en périphérie.

- La membrane nucléaire est irrégulière et comporte parfois des évaginations de son feuillet externe.
- Le cytoplasme, abondant, contient des organites beaucoup plus nombreux et mieux structurés que dans le petit lymphocyte. L'appareil de Golgi est bien développé, sous forme de saccules et vésicules groupées au voisinage du noyau. Il prendrait la forme d'un "Huit". Les mitochondries sont allongées, à crêtes nombreuses; elles sont parfois gonflées et renferment alors de gros cristaux irréguliers.

L'appareil de protéosynthèse est particulièrement bien représenté dans la cellule blastique, surtout sous forme de ribosomes, libres ou groupés en polysomes, et dispersés dans toute l'aire cytoplasmique.

Les sacs ergastoplasmiques granuleux, plus nombreux que dans le petit lymphocyte, restent en quantité modérée. Il en est de même du réticulum endoplasmique lisse qui prend la forme de petites vésicules ou de sacs lamellaires allongés.

- Le cytoplasme est souvent vacuolisé mais de façon très variable d'une culture à l'autre. Ces vacuoles sont limitées par une membrane particulièrement nette; elles mesurent de 0,1 à 0,3 μ , sont rondes ou polygonales, contiennent un matériel

amorphe de densité variable, parfois du glycogène et probablement des graisses. Elles sont localisées dans tout le cytoplasme mais préférentiellement à proximité de l'appareil de Golgi et de la membrane cellulaire.

- Les lysosomes apparaissent de plus en plus nombreux, et HALPERN et coll. (1968) distinguent deux types d'organites propres au système lysosomal :

- des granules localisés dans la région de l'appareil de Golgi à contenu homogène et finement granu, présentant une densité moyenne aux électrons et correspondant à des lysosomes primaires. Certains sont plus denses, en forme d'anneau plus ou moins fermé.

- des granules de type autophagique ou lysosomes secondaires abondants au début de la transformation blastique, et renfermant plusieurs membranes accolées les unes aux autres.

- On trouve enfin dans les Lymphoblastes de nombreux petits corps multivésiculaires, quelques microtubules d'environ 200 Å de diamètre, quelquefois des formations fibrillaires dont chaque fibrille mesure 50 à 70 Å. Dans certaines cellules seulement, on peut observer de volumineuses images de type "Myélinique" qui pourraient résulter de l'activité lysosomiale, ainsi que des structures cristallines périodiques.

ETUDE BIOCHIMIQUE, ENZYMOLOGIQUE ET METABOLIQUE

DE LA TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

- De nombreuses études ont été faites sur les modifications métaboliques au cours de la Blastogénèse. En particulier les études de WAITHE et HIRSCHORN utilisant l'incorporation de Thyridine marquée, permettant une étude sur plusieurs jours avec marquage des ADN ³²P - et l'incorporation d'Uridine marquée étudiant le devenir des ARN ³²P pendant quelques heures. Enfin intérêt de l'utilisation de la Leucine C 14 marquée, permettant l'étude des synthèses protéiques.

On peut actuellement résumer les modifications biochimiques, enzymologiques et métaboliques, selon la chronologie suivante :

I - AU TEMPS ZERO

Liaison du petit lymphocyte et du stimulant antigénique

La liaison suppose une reconnaissance de la substance stimulante par la cellule, donc l'existence de Récepteurs.

La nature exacte de ces récepteurs est ignorée. Mais l'on sait qu'ils peuvent être bloqués par des substances comme la N-acétyl-galactosamine qui empêche la liaison avec la P.H.A.

Les récepteurs sont activés par les groupements sulfhydryl, et surtout par les antigènes spécifiques. Le récepteur est peut être l'extrémité active de la molécule d'anticorps de membrane.

II - DES LA 15° MINUTE

On observe une augmentation rapide du "Turn over" des Lipides - de même qu'une synthèse accrue des Phospholipides de la membrane, une augmentation d'activité des Cyclases de membrane et une augmentation des A.T.Pases. tous signes révélant une ac-

tivation de la membrane.

III - Puis intervient un phénomène de PINOCYTOSE active tandis que parallèlement on retrouve

- une Phosphorylation des Nucléoprotéines
- et une acétylation des Histones.

IV - AU BOUT DE 60 MINUTES, apparaît la Formation de Lysosomes secondaires, et de vacuoles pinocytosiques (Lysosomes plus labiles) qui contiennent des Enzymes qui peuvent être libérées dans le surnageant.

V - AU BOUT DE 2 HEURES, apparaît la synthèse ribosomiale, avec un turn-over de l'ARN qui s'accroît considérablement; cette synthèse d'ARN est très précoce (100 à 120 minutes) et sera prolongée plus de 20 heures.

C'est à partir de ce temps que le mécanisme de transfert de l'information immunologique est possible.

Toutes ces modifications biochimiques et enzymologiques ne sont pas spécifiques, mais elles sont le témoin du passage de cellules quiescentes à des cellules au métabolisme rapide.

VI - VERS LA 4^e HEURE, apparaît la synthèse de protéines

- Ces protéines peuvent être aspécifiques, ou spécifiques, comme les immunoglobulines. La synthèse d'Ig G a ainsi pu être mise en évidence à ce stade (GIRARD et coll.) (LOBB).

- C'est à partir de ce stade que peuvent être détectés dans le surnageant un certain nombre de facteurs libérés par les lymphocytes activés : (Facteur d'inhibition des macrophages, Facteur cytotoxique, facteur mitogène, ... cf. tableau).

- De nombreuses substances enzymatiques sont alors synthétisées au niveau des Nouveaux Lysosomes (Lysosomes secondaires) par exemple, la Phosphatase acide étudiée par DOUGLAS et BOJERSON.

VII - VERS LA 36ème HEURE survient la synthèse de DNA, bien étudiée par la thymidine tritiée.

VIII - Et c'est VERS LA 48ème HEURE que surviennent les premières divisions cellulaires.

Cette étude chronologique a été effectuée en présence de P.H.A. Une réponse rapide de ce type peut être obtenue avec les stimulants lymphocytaires non spécifiques tels :

- Pokeweed mitogen
- Concanavalin A
- Streptolysine
- Staphylo-~~a~~-toxine
- Sérum anti-lymphocytaire
- Anti gamma globuline
- Sérum anti-allotype
- L'Ion Mercure

et certains complexes Antigène - Anticorps.

En présence de stimulants spécifiques (Allergènes médicamenteux) la réponse est du même type, mais plus lente, avec une réponse optimum en 5 jours.

C - TECHNIQUE DU TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

- Nous avons utilisé la technique d'HALPERN, modifiée, simplifiée par Madame le Dr PAPIERNIK.
- Cette technique permet la pratique du test avec des quantités de sang minimales de l'ordre de 2 à 3 ml pour l'étude d'un allergène donné.
- Elle peut donc être utilisée sans restriction chez le jeune enfant et même le Nourrisson.
- Elle comporte plusieurs Etapes.

I - LE PRELEVEMENT SANGUIN

- Il nécessite la rigueur aseptique d'une hémoculture
- désinfection à la teinture d'iode (ou autre antiseptique puissant s'il existe une suspicion d'allergie à l'Iode).
 - veinipuncture sur seringue préalablement héparinée.
 - le sang recueilli est mis dans un tube stérile avec quelques gouttes d'Héparine.
(Nous avons utilisé diverses présentations d'héparine (Fournier, Choay, Liquémine, Calciparine) sans difficulté .
 - le tube est placé immédiatement en position verticale dans une étuve à 37 °.
 - la mise en culture devra alors s'effectuer dans les 2 à 4 heures qui suivent, au maximum.
 - Toute formation de caillot, ou de micro-caillot, tout contact non stérile, tout séjour prolongé à une température inférieure à 37°, vont empêcher le bon déroulement du test.

II - LA PREPARATION DES ANTIGENES

- L'ensemble des étapes suivantes doit être effectuée en ambiance stérile.
- Nous l'avons réalisé dans une hotte en verre, enclose, régulièrement lavée aux antiseptiques (Cetavlon concentré); et nous travaillons constamment sous la flamme d'un Bec Bunsen.
- La préparation des Antigènes est un temps essentiel du test, posant souvent des problèmes techniques.
- Elle s'effectue dans des fioles cylindro-coniques de Fourneau stériles.
- Il faut d'une part réaliser des solutions de l'antigène incriminé, ce qui est simple pour les médicaments hydrosolubles, facilement dissous à la température ambiante.
d'autre part réaliser des dilutions connues et précises de cet antigène.
- Les Antigènes liquides sont dilués dans du sérum physiologique, ou mieux directement dans le milieu de culture Parker T.C. 199= Les concentrations finales antigéniques sont facilement obtenues.
- Pour l'échelle des concentrations utilisées nous nous sommes référé aux travaux antérieurs (HALPERN, J.M. COURT), en utilisant si possible un assez large éventail de dilutions (Cf. Tableau).
- Pour les allergènes jamais testés nous avons procédé par tâtonnement en utilisant plusieurs dilutions et en se référant soit aux concentrations sériques obtenues in vivo lors de l'utilisation du médicament testé, soit aux dilutions utilisées pour des T.T.L. faits avec des substances voisines.
- Les antigènes solides, comprimés ou dragées, sont broyés soit dans une cupule stérile, soit entre 2 feuillets d'aluminium

CONCENTRATIONS D'ALLERGENES PAR ML. de CULTURE

Acide Nicotinique	10 à 50 ✕	Déserrnil	100 à 250 ✕
Adiazine	50 à 250 "	Diabinèse	25 à 75 "
Amobarbital	50 ✕	Dihydan	100 à 300 "
Ampicilline	60 à 500 ✕	Diodone	75 à 200 "
Amidopyrine	100 à 250 "	Erythromycine	20 à 75 "
Antalvic	4 à 10 "	Extencilline	100 à 1000 unit.
Antipyrine	20 à 50 "	Flabelline	50 à 500 ✕
Aspirine	10 à 100 "	Furadoïne	10 à 100 "
Atropine	10 à 50 "	Gardénal	10 à 50 "
Auriomycine	100 à 150 "	Gentalline	10 à 100 "
Benzathine	100 à 250 "	Gentisate de	
Bromure de camphre	10 à 50 "	Soude	10 à 50 "
Buscopan	25 à 75 "	Glucidoral	25 à 75 "
Bristopen	50 à 500 "	Glucophage	100 à 1000 ✕
Butobarbital	25 à 75 "	Griséfuline	250 à 750 "
Cathomycine	50 à 250 "	Hydergine	2 à 10 "
Céporine	20 à 500 "	Isoniazide	10 à 100 "
Cléofil	75 à 100 "	Insoral	25 à 75 "
Codéine	2 à 20 "	Insuline	2 à 10 unit.
Colchinéos	3 à 10 "	Largactil	1 à 20 ✕
Colimycine	100 à 500 unit.	Librium	2 à 10 "
Contrix	50 à 100 ✕	Lincocine	50 à 100 "
		Négram	5 à 10 "

Néomycine	25 à 250 ✕	'	Sécobarbital	20 à 50 ✕
Néosynéphrine	25 à 75 "	'	Sérocoq.	10 à 500 "
Novalgine	10 à 50 "	'	Sintrom	100 à 250 "
Novocaïne	150 à 300 "	'	Solnicol	10 à 50 "
Nozinan	10 à 50 "	'	Solucamphre	300 à 500 "
Oléandomycine	50 à 150 "	'	Solumédine	20 à 100 "
Optalidon	100 à 300 "	'	Streptomycine	100 à 300 "
Oxyferriscorbone	20 à 50 "	'	Sultirène	20 à 100 "
PAS	5 à 300 "	'	Synacthène	20 à 75 "
Pénicilline	50 à 2000 unit.	'	Tartrazine	0,1 à 10 "
Phénacétine	2 à 10 ✕	'	Terramycine	50 à 300 "
Phénergan	10 à 50 "	'	Tétrasulfamides	20 à 100 "
Phénothiazines	25 à 50 "	'	Thyroboline	75 à 100 "
Phénylbutazone	50 à 100 "	'	Thyroglobuline	100 à 200 "
Pindione	50 à 100 "	'	Tifomycine	75 à 100 "
Polyosides	100 ✕	'	Tofranil	25 à 50 "
Procaine	50 à 200 "	'	Transcycline	10 à 100 "
Pyramidon	50 à 100 "	'	Tuberculine	2 à 5 unités
Quinine-Sulfate	50 à 100 "	'	Valium	5 à 75 ✕
Radio sélectan	25 à 250 "	'	Vasurix	25 à 250 "
Rifampicine	50 à 500 "	'	Vitamine B ₁	100 ✕
Rovamycine	25 à 75 "	'	B ₂	100 à 300 ✕
Salicylate de soude	10 à 50 "	'	B ₆	100 à 200 "
S.A.T.	15 à 75 "	'	B ₁₂	25 à 100 "
		'	Xylocaïne	100 à 250 ✕
		'	Zyloric	20 à 50 "

stérile, puis mis en solution dans le sérum physiologique. Parfois un chauffage modéré (qui risque de modifier la structure chimique de l'antigène) est nécessaire pour obtenir une solubilisation.

Parfois une stérilisation par filtration sur filtre Millipore est nécessaire.

Enfin une centrifugation peut être nécessaire pour éliminer les particules non solubilisées.

Il faut souligner que lors de ces dernières manipulations, la concentration finale en antigène devient mal déterminée (dans des limites permettant cependant une évaluation).

En cas d'allergie clinique à une préparation contenant une association de différentes substances médicamenteuses, il est nécessaire de faire un test étudiant chacune des substances considérées comme un antigène isolé; mais il peut être cependant fait un test global avec la préparation pharmaceutique.

III - LA PREPARATION DU MILIEU DE CULTURE

Nous utilisons le milieu de culture cellulaire PARKER T.C. 199, de l'Institut PASTEUR.

Il est présenté sous la forme d'une ampoule de 50 ml renfermant le soluté concentré avec un indicateur coloré, et d'une ampoule de 20 ml renfermant le tampon bicarbonaté. La préparation du milieu est réalisée en ambiance stérile, par le mélange du contenu des deux ampoules dans 430 ml d'eau bidistillée.

On obtient ainsi 500 ml du milieu nutritif qui peut se conserver au réfrigérateur à 4° pendant une quinzaine de jours.

Une contamination microbienne de ce milieu, ou une conservation prolongée du mélange entraînent des échecs de culture.

IV - ISOLEMENT DU CULOT LEUCOCYTAIRE

- Le prélèvement sanguin est resté, tube en position verti-

cale, pendant une à deux heures, à l'étuve à 37°.

- Il s'est opéré une sédimentation.

- A l'aide d'une pipette stérile on prélève le plasma brut et le culot leucocytaire surnageant du culot d'hématies.

- Le mélange plasma brut et le culot leucocytaire sont alors rendus homogènes.

- Une numération des lymphocytes peut être effectuée dans ce mélange pour en étudier la concentration en lymphocytes.

V - MISE EN CULTURE

- Nous effectuons les cultures dans des tubes de BARSKI-LEIGHTON, en verre, dont le nettoyage et la stérilisation ont été très minutieux.

- Nous préparons pour chaque malade plusieurs tubes

- un tube témoin, sans antigène :

contenant Plasma + leucocytes additionnés du milieu de culture.

- un tube témoin avec Phyto-hémagglutinine

contenant Plasma + leucocytes additionnés du milieu de culture et de 1 goutte de P.H.A. par millilitre de culture totale.

- autant de tubes que de dilutions de ou des antigènes testés. contenant donc : Plasma + leucocytes, additionnés du milieu de culture, auxquels on rajoute les antigènes aux concentrations déterminées (cf. tableau).

- La quantité de milieu de culture dépend de la quantité de Plasma + leucocytes, et nous avons adopté les proportions suivantes :

1/4 de plasma + leucocytes, pour 3/4 de milieu de culture.

- La quantité minimum de plasma + leucocytes utilisée pour un tube a été de 0,3 ml, soit une culture totale de 1,2 ml.

- La quantité moyenne utilisée est de 0,5 ml de plasma - leucocytes; soit une culture totale de 2 ml.

Ces tubes sont bouchés hermétiquement à l'aide de bouchons de caoutchouc préalablement lavés minutieusement et stérilisés à l'autoclave.

Les cultures sont placées à l'étuve à 37°, en position oblique, sur un portoir incliné, la face plane vers le bas.

Elles y restent une durée de 4 à 5 jours.

VI - MISE EN EVIDENCE DE LA TRANSFORMATION

Le 4° au 5° jour, les cultures sont sorties de l'étuve à 37° et l'on effectue la mise en évidence de la transformation. Ce but nécessite plusieurs étapes :

1°) mise en suspension des éléments cellulaires de la culture qui adhèrent sur les parois du tube de verre. Le décollement de ces cellules s'effectue à l'aide d'une pipette PASTEUR dont l'extrémité est fondue à la flamme et n'est pas sectionnée.

On réalise ainsi une mise en suspension du maximum d'éléments cellulaires de la culture.

2°) Centrifugation

La culture est alors versée dans un tube conique de centrifugation; et l'on réalise une centrifugation douce à 800 tours/minute pendant 8 à 10 minutes.

Le surnageant est alors délicatement décanté et l'on recueille à l'aide du tube capillaire de la pipette PASTEUR, le culot cellulaire de centrifugation, préalablement homogénéisé par agitation.

3°) Frottis

Pour chaque culot, on effectue alors 3 frottis sur lame de verre dégraissée à l'alcool, et sèche.

4°) Coloration

La coloration du Frottis s'effectue selon la méthode de MAY-GRUNEWALD-GIEMSA.

5°) Lecture

- La lecture s'effectue au microscope optique au plus fort grossissement, à l'immersion.

- La lecture doit être rigoureuse et obéir à des règles:

- . On doit choisir la lame la mieux étalée, qui permet de bien isoler les éléments cellulaires entre eux, qui doivent être facilement reconnaissables. Au besoin, lire successivement 2 ou 3 lames.
- . La lecture doit être systématique en parcourant la lame de bout en bout dans le sens de la longueur, en sachant que les lymphoblastes, du fait du plus grand volume de leurs cellules et de certaines capacités d'adhérence ont tendance à se regrouper en queue de frottis.
- . Il faut reconnaître un minimum de 500 cellules lymphoïdes dans les cas simples; un minimum de 1000 à 1500 cellules lymphoïdes lorsque les pourcentages sont d'interprétation difficile.
- . Dans ce dernier cas, la lecture des mêmes lames par 2 examinateurs différents, est nécessaire.
- . Les caractéristiques cytologiques des lymphocytes d'une part, des lymphoblastes d'autre part, doivent être parfaitement connues de l'examineur (cf. chapitre antérieur).
- . La reconnaissance des "cellules intermédiaires" comme cellule transformée, considérée comme blastique doit dépendre de critères rigoureux :
 - une taille plus petite (10 à 20 μ) que les grands lymphoblastes.

- un noyau irrégulier, à chromatine fine
(de coloration plus rouge au MAY-GRUNEWALD-GIEMSA)
 - des nucléoles nombreux
 - un rapport nucléo cytoplasmique plus faible que les lymphocytes petits et moyens
- . en cas de doute persistant, la cellule n'est pas comptée.
- . Nous avons réalisé des photographies en couleurs, sur film diapositif Kodachrome II, des cellules intermédiaires qui permettent de mieux préciser les modifications cellulaires et la différence de coloration entre les lymphocytes non activés et les "cellules intermédiaires".

Enfin, il faut différencier les Plasmocytes que nous avons compté comme éléments transformés.

Il faut enfin, éliminer de tout comptage, les macrophages, facilement reconnaissables, les monocytes et les polynucléaires, ces derniers étant le plus souvent absents ou lysés dans les cultures, au décours des 4 ou 5 jours.

DISCUSSION SUR LA TECHNIQUE

Avant de donner une interprétation des résultats, il faut bien connaître les facteurs techniques qui peuvent faire varier la transformation lymphoblastique, ou mettre en échec les cultures.

A - LES CONDITIONS DU PRELEVEMENT SANGUIN

- Il est nécessaire que le prélèvement sanguin soit effectué dans les conditions de stérilité parfaite. Le milieu de culture étant idéal pour la prolifération bactérienne ou mycosique.

- La présence d'Héparine, à l'exclusion de tout autre anticoagulant dont l'antigénicité risque de fausser les résultats, est nécessaire faute de quoi la formation d'un caillot englobant les leucocytes rend la culture impossible.

B - LES CONDITIONS DE L'ISOLEMENT DU CULOT LEUCOCYTAIRE

Notre méthode ne procède pas à une étape que GILL (1967) et HALPERN (1967) considèrent comme importante : la séparation des lymphocytes et des polynucléaires par passage du sang sur colonne de laine de verre, type chromatographie, ou colonne type "Halpern".

Nous pensons que la richesse relative en lymphocytes par rapport aux polynucléaires du sang de l'enfant nous autorise à ne pas pratiquer cette étape.

Nous obtenons lors de la mise en culture une concentration de lymphocytes comprise entre 2000 et 3000 par ml. de culture.

Par ailleurs, la raison principale de l'élimination préalable des polynucléaires de la culture était leur éventuel pouvoir stimulant sur la blastogénèse. Ce pouvoir est mis en doute par de nombreux auteurs (HASHIM, 1965, CARON 1967) et surtout par

les travaux de SABESIN (1965). Ce dernier pensant même que les polynucléaires auraient un léger effet inhibiteur sur la transformation.

Enfin, le passage sur laine de verre, augmentant le nombre et la durée de manipulation avant la mise en culture n'est pas sans inconvénient :

- pertes cellulaires
- risques de contamination bactérienne supplémentaire.

Dans tous les cas, il est cependant nécessaire de disposer d'une numération globulaire avec formule leucocytaire du sang de l'enfant pour apprécier les 3 éléments suivants :

- a) la richesse en lymphocytes
- b) la richesse éventuelle en polynucléaires (et ne pas faire, si possible, de test de transformation lymphoblastique en période de poussée infectieuse bactérienne).
- c) l'existence d'une monocytose intercurrente rendant la lecture plus délicate.

C - LES CONDITIONS DE LA PREPARATION DES ANTIGENES

- Certains antigènes, du fait soit de leurs qualités physiques (liposolubles par exemple), soit de leur présentation pharmaceutique (suppositoires ou dragées), nécessitent des artifices techniques pour être mis en milieu de culture. Il est alors difficile de connaître exactement la concentration antigénique et la valeur du "contact" antigène - cellules lymphoïdes - l'interprétation des résultats doit tenir compte de cet élément avant d'éliminer avec certitude une sensibilisation in vivo.

- Pour certains antigènes, il est par ailleurs nécessaire d'obtenir de très faibles concentrations si l'on veut éviter une action cytotoxique ou cytolytique sur les cellules lymphoïdes.

- Enfin, certains antigènes peuvent modifier de façon importante le pH du milieu de culture, nécessitant l'apport de substances-tampons supplémentaires. Mais, le plus souvent (même pour l'Aspirine et le Négram) il n'est pas nécessaire d'augmenter la richesse en substance tampon du milieu Parker TC 199, dont l'indicateur coloré ne se modifie pas. Cela est dû à la très faible concentration d'antigène utilisée.

D - LES CONDITIONS DE STERILITE DES CULTURES

- Les échecs de culture sont dans la plupart des cas dus à une contamination bactérienne.

- Certains auteurs mettent systématiquement une faible quantité d'antibiotiques (Streptomycine, Pénicilline...) dans les différents tubes, pour prévenir cette prolifération bactérienne.

- Nous avons utilisé cette méthode les premiers temps, mais le grand risque de transformation lymphoblastique induite par cette antibiothérapie chez des sujets allergiques nous y a fait renoncer.

Actuellement les précautions de stérilisation du matériel, d'asepsie dans les manipulations, de bonne conservation du milieu nutritif, et de stérilisation des antigènes, font que les contaminations de cultures sont rares.

CONDITIONS DE L'INTERPRETATION

DES RESULTATS

L'interprétation des Résultats doit tenir compte de plusieurs facteurs :

A - DES FACTEURS CLINIQUES

- Il faut respecter, dans la mesure du possible, un délai de plusieurs semaines entre l'accident clinique et le test de transformation lymphoblastique: l'accident allergique entraînant une transformation spontanée qui rend ininterprétable les pourcentages retrouvés.

- De même, il est important de connaître l'existence d'un traitement éventuellement inhibiteur de la transformation prescrit les jours précédant le test (cf. plus loin).

B - DU POURCENTAGE DE TRANSFORMATION DU TEMOIN SANS ANTIGENE

Ce pourcentage indique le degré de transformation spontanée des Lymphocytes du sujet.

- qu'il s'agisse d'un accident clinique allergique récent et l'on retrouve ainsi les traces de la stimulation.

- qu'il s'agisse d'une stimulation extrinsèque d'un antigène mis en présence des cultures au cours de la manipulation :

- a) - défaut de nettoyage de la verrerie (antigénicité des détergents, d'antigènes utilisés antérieurement ...).
- b) - introduction d'un antigène au cours du prélèvement sanguin: (trace d'antibiotique, anticoagulant, iode de la substance de désinfection...).
- c) - des protéines du milieu de culture, dénaturées par vieillissement et devenant sensibilisantes.

- Enfin, certains auteurs (GILL 1967) pensent que l'on peut observer parfois jusqu'à 8 % de lymphoblastes chez les sujets sains !

Dans tous les cas, il est capital de comparer les résultats en fonction de ce tube témoin, en sachant que chez les sujets allergiques le pourcentage de transformation blastique en présence de l'antigène sera nettement supérieur au pourcentage de transformation spontanée.

Ainsi la comparaison du taux de transformation en l'absence et en présence d'antigène permet d'évaluer l'influence propre de l'antigène.

C - DU POURCENTAGE DE TRANSFORMATION DU TUBE TEMOIN EN PRESENCE DE PHYTOHEMAGGLUTININE

Ce tube permet d'évaluer les capacités des lymphocytes du malade de se transformer en présence d'antigène. Il permet ainsi de déceler l'existence de facteurs inhibiteurs des cultures donnant de fausses réponses négatives au T.T.L.

a) il peut s'agir de différents agents thérapeutiques :

- certains antibiotiques sont connus pour inhiber la transformation lymphoblastique :
 - la tétracycline
 - le chloramphénicol
 - des substances comme les antimétaboliques, l'actinomycine, la puromycine.
 - certaines substances médicamenteuses d'utilisation usuelle comme :
 - la chlorpromazine
 - les barbituriques
- et aussi, à dose thérapeutique ,
l'Aspirine et le Salycilate de Soude

- Enfin et surtout les STEROIDES, et en particulier les GLUCOCORTICOIDES :

La Positivité d'un test de transformation lymphoblastique à la pénicilline ou à l'aspirine, peut disparaître après l'administration de corticoïdes pendant 8 jours (GILL 1967, HALPERN 1967). Selon PINON (1968), quatre jours avant le prélèvement, une seule injection de dexaméthasone suffit à négativer un test. Il semble nécessaire de respecter un délai de 8 à 15 jours après l'arrêt de tout traitement par les corticoïdes avant de pratiquer un T.T.L.

b) il peut s'agir de certaines maladies

- épisode viral intercurrent
- maladies anergisantes
- hémopathies malignes (HODGKIN)
- agamma-globulinémie
- et autres états de déficit immunitaire
- insuffisance rénale chronique

L'étude du pourcentage de transformation lymphoblastique avec P.H.A. révèle donc la capacité de transformation des Lymphocytes. Elle permet d'interpréter les chiffres de transformation avec antigènes.

D - DU POURCENTAGE RETROUVE POUR L'ANTIGENE DETERMINE,
A CHACUNE DES DILUTIONS TESTEES

Nous avons considéré comme en faveur d'une allergie médicamenteuse les tests comportant un pourcentage de transformation supérieur à 4 % pour l'une des dilutions testées, dans la mesure où la différence entre le pourcentage du tube-témoin sans antigène et du tube se "transformant" est supérieure à 2 %.

Nous considérons comme "suspect" d'allergie médicamenteuse, un sujet dont les lymphocytes se transforment dans une propor-

tion inférieure à 4 %, s'il y a une différence très significative entre le pourcentage témoin, et le pourcentage avec stimulation antigénique (plus de 2,5 à 3 %). L'examen doit alors être refait, en multipliant les dilutions antigéniques, en poursuivant les cultures jusqu'au 5° ou 6° jours (antigènes faibles).

VI - R E S U L T A T S

-:-:-:-:-:-:-:-:-

Nous avons porté sur les différents tableaux, les résultats des 102 tests de transformation lymphoblastique effectués en présence de substances médicamenteuses selon la répartition suivante :

Pénicilline G	:	60 tests
Ampicilline	:	11 tests
Céporine	:	3 tests
Gardénal	:	7 tests
Anti-tuberculeux	:	7 tests
Cyclines	:	4 tests
Novobiocine	:	2 tests
Aspirine	:	2 tests
Divers médicaments	:	5 tests

Nous avons écarté de ces résultats les échecs de culture ayant porté sur les tubes-témoins ou les tubes avec antigène, rendant ininterprétable la transformation lymphoblastique éventuelle.

Dans un certain nombre de cas, en particulier pour la pénicilline, nous avons indiqué le résultat des autres tests allergologiques en notre possession, permettant une étude comparative.

Enfin, dans tous les cas, nous indiquons le type d'accident clinique ayant motivé l'enquête allergologique. Il est fréquent que nous ayons étendu le test à des allergènes qui n'étaient pas en cause après étude des circonstances de survenue de l'accident allergique. Dans ces cas, la négativité du test nous a confirmé dans la Fidélité du T.T.L., et nous a fourni des témoins négatifs.

ALLERGIE A LA PENICILLINE

[illegible]

A - 60 tests de transformation lymphoblastique en présence de Pénicilline G ont été effectués.

- Dans 27 cas, le test s'est révélé positif, en concordance avec la clinique, très évocatrice d'allergie à la Pénicilline.
- Dans 30 cas, le test s'est révélé Négatif en concordance avec la clinique (accident clinique absent, ou douteux ; positivité d'un autre allergène; ou accident rattaché à une autre cause).
- Dans 3 cas, l'histoire clinique était très évocatrice d'allergie à la Pénicilline. Mais le T.T.L. est trouvé Négatif. (Cas 36, Cas 68, Cas 83) : il existe dans ces trois cas une différence sensible entre le taux de transformation du témoin et celui des antigènes. Mais les taux de ces derniers ne dépassent pas 4 %. Il est possible qu'une prolongation des cultures ait permis de déceler une transformation franche.

Pour l'un des cas (68) l'accident clinique était d'ailleurs dû à l'ampicilline.

B - COMPARAISON AVEC LA REACTION D'HEMAGGLUTINATION A LA
PENICILLINE

Sur les 27 cas où le T.T.L. s'est révélé positif, 23 ont eu une réaction d'hémagglutination à la pénicilline, dont 19 sur 23 (soit 82,6 %) se sont révélées positives à des taux franchement élevés, mettant en évidence la présence d'anticorps hémagglutinants.

et 4 sur 23 (soit 17,4 %) ont eu une réaction d'hémagglutination

négative.

Il est intéressant à noter que si l'on compare les échecs de la réaction d'hémagglutination par rapport au T.T.L., en fonction du type d'accident clinique (cf. tableau) on remarque que les anticorps hémagglutinants n'ont été retrouvés que dans 50 % des chocs anaphylactiques (2 sur 4) et dans 80 % des exanthèmes simples. Ce fait est à rapprocher du rôle d'anticorps bloquants que certains auteurs ont donné aux anticorps hémagglutinants à la pénicilline :

Sur les 30 cas où le T.T.L. s'est révélé négatif, des réactions d'hémagglutination ont été pratiquées 16 fois. Elles sont revenues négatives, en concordance avec le T.T.L. et la clinique dans 13 cas sur 16 (81,2 %) et positives, en discordance avec le T.T.L. et la clinique dans 3 cas sur 16 (18,8 %).

Dans ces 3 cas (N° 2, 4 et 12), il est à noter que la réaction d'hémagglutination était faiblement positive (+).

C - COMPARAISON AVEC LES TESTS CUTANES AU PENICILLOYL-POLYLYSINE

- Dans 7 cas, le T.T.L. a été couplé avec des tests cutanés à la Pénicilloyl-Polylysine.
- dans 4 cas, le T.T.L. était positif avec, dans 2 cas des tests cutanés positifs, en concordance (cas N° 3 et 7).
et dans 2 cas, des tests cutanés négatifs, en discordance.

Il est à noter dans ces 2 cas que la dilution utilisée pour le test cutané, était élevée (au 1/2500°) des tests plus concentrés n'ont pas été effectués étant donné le risque d'accident clinique.

- dans 3 cas, le T.T.L. était négatif avec 2 fois des tests cutanés négatifs confirmant le résultat du T.T.L.
et dans un cas (N° 34) une cuti positive à 250 $\times$, alors que les autres tests, hémagglutination, anaphylaxie passive in vitro, étaient négatifs.

- D - L'anaphylaxie passive in vitro a été pratiquée deux fois avec 1 fois un test concordant (N° 34) avec le T.T.L. et la clinique.
et une fois un test discordant (N° 59) avec le T.T.L., la clinique et l'hémagglutination.

- E - Le test de SHELLEY a été pratiqué 1 fois, il s'est révélé faiblement positif, alors que le T.T.L. était négatif et l'histoire clinique évocatrice d'un épisode viral, n'était pas en faveur d'une allergie à la Pénicilline (cas n° 2).

ACCIDENTS CLINIQUES	N O M B R E D E C A S		
	TTL +	Hémagglutination	
		+	-
Chocs anaphylactiques	4	2	2
Urticaires	3	3	0
Exanthèmes	10	8	2
Asthme	1	1	0
Oedème de Quincke	1	1	0
Purpura pétéchiâ et ortié	1	1	0

ALLERGIE A LA PENICILLINE

COMPARAISON : CLINIQUE - TTL - HEMAGGLUTINATION

Cas	Nom	Age	Accident clinique	T	PHA	Pénicilline (unité par ml)						Héماغglutination	PPL	APIV
						50	100	500	750	1000	2000			
1	Ludovic TES..	4 A	Purpura pétéchi- al et ortié	1,35	48	21		1,23	3,55	6,45		+ + 1/4		Shelley +
2	Laurence BRA..	2 A ½	Eruption érythéma- to papuleuse, polycyclique	0,63	41			0,50		1,13		+ 1/8		
3	Bruno TIN..	15 A	Eruption érythéma- teuse prurigineuse	4,5	36,5	4,65				8,9	13,4	+ + + 1/16	ID 500 +	
4	Thierry CHA..	8 A	Urticaire Oedème de Quinke	1,2	58	0,9		1,42				+ 1/16		
6	Noraa FAT..	4 A	Eruption érythéma- teuse, choc ana- phylactique	3,4	40					21	5,3	+ + + 1/8		cuti +
7	Bruno COU..	1 A	Choc anaphylac- tique	5,7	60					5,4	7,5			
10	Blandine SIM..	12 A	Urticaire généralisé	0,37	67					0,40	6,5 (5 j)	+ + + 1/64		
12	Isabelle BRO..		Purpura pétéchi- al et ecchymotique	0,58	64					0,54	0,54	+ 1/4		
15	Anne MIH..	16 A	Eruption prurigineuse	0,88	74,4	1,65				7,47		+ + 1/8		
16	Eric BAU..	3 A	Purpura rhumatoïde	3,25	80,84			2,10						
19	Simon HOU..	5 A	Eruption érythémateuse	2,5	75			7,2		2,27		+ +		
20	Marc PAR..	6 A	Antibiothérapie fréquente sans accident	3,30	61,0		2,98	1,80			1,77	-		
21	Didier PIE..	11 A ½	Erythème mor- billiforme	0,14	64,7		5,43				3,36	+ + + 1/8		
22	Laurence DER..	6 A	Erythème mor- billiforme	1,04	34,64		8,90				12,2	+ + + 1/32		

24	Eric LEN..	4 A ½	Fièvre, éruption syndrome hyperalgique	1,64	0,46		1,05			0,58	-		
25	Patrick MIC..	9 A ½	Asthme	0,67	59		7,26			4,21	+	+	
28	Isabelle ECC..	4 A ½	Urticaire généralisé	1,5	55	3,21				2,50	-		
30	Mathilde CAL..	1 A	Malaise avec choc anaphylac- tique	1,20	56,7	2,9				6,6	+	+	+
32	Haouda TEG..	5 M	Eruption morbil- liforme	1,18	71,2	3,40		5,48			-		
34	Marc BLA..	11 A	Eruption Oedème de Quincke	0,98	46	1,14		2,06		2,13	-	+	250
35	Claire DAR..	5 A ½	Eruption scarla- tiniforme	1,93	55,6	4,79	4,77	5,30		9,19	+	+	
36	Franck BLA..	1 A	Eruption érythé- mateuse	0,44	66	2,06	0,52	1,24		2,67		1/8	
37	Véronique ESN..	4 A	Choc anaphylac- tique	1,13	40,40		2,46		4,75	4,07	-		
39	Christo- phe BER..	3 A ½	Eruption morbil- liforme	0,75	83,6		1,53	1,31		4,36	+	+	+
41	Jean- François JOL..	6 A	Fièvre + éosino- philie	2,07	37	3,3				12,8	9,2	1/8	
42	Hervé NAK..	2 A ½	Oedème péri- orbitaire conjonctivite	1,40	12,63		1,48			1,01	-		
43	Luc PAR..			0,35	44		7,36			4,13	+	+	+
												1/16	

anaphy-
laxie
in
vitro
(-)

45	Chrys- telle QUE..	2 A	Eruption érythé- mateuse	2,40	60		7,6		10,02	-		
46	Myène DER..	10 A	Eruption érythé- mateuse et urti- carienne	2,61	69		3,38	4,96		+ + + 1/16		
48	François ROU..	17 A	Oedème de Quincke urticaire	0,79			1,85		1,59	-		
50	Hélène COL..	7 A	Oedème de Quincke	1,42	66,24	1,79	1,76	5,34		+ + + 1/64		
51	Catherine POU..		Urticaire géant	0,96	93,9	1,70		1,94	0,91	-		
55	Denis ROU..	12 A	Urticaire géant Oedème de Quincke	1,93	78			1,42				
56	Jean Louis FAN..	11 A ½	Syndrome de Stevens-Johnson	1,8	51,9				1,8			
57	Agnès DEB..	3 A	Eruption pété- chiale prurigi- neuse	1,72	90		1,1	1,52	0,37	-		
59	Nathalie OLI..	6 A	Eruption érythé- mateuse	0,66	34,5		5,6	2,8	5,57	+ + + 1/16	cuti I.D. 1/ 2500 (-)	anaphy- laxie passive in vitro (-)
60	Ahmed RAO..	8 A ½	Antibiothérapie fréquente sans accident	0,76	62,5		2,17		3,65			
61	Sylvie CAI..	1 A	Eruption morbil- liforme	0	46,3				0,94			
62	Didier HOF..	10 A	Oedème de Quincke	0,36	+++		0	1,7	1,4	+ + 1/32		

63	Christine PEC..	9 A	Urticaire Oedème de Quincke	0,73	99		1,0		1,69	-	-	+
64	Annick LOP..	4 A ½	Eruption urti- carienne, choc anaphylactique	2,88	91		3,3	9,2	4,2	-	-	Cuti 1/2500- 1/500 -
65	Elisabeth LAN..	10 A	Oedème de Quincke	0	77		0,75		2,54			-
68	Isabelle GOI..	5 A		1,66	96	2,8		3,47		-		
72	Francis CLE..	11 A	Eruption macu- leuse	1,24	50			5,8	4,2			
73	Maria GON..		Oedème péri- orbitaire	2,54	67	0,86			0,44			
76	Marius AIG..	10 M	Eruption érythé- mateuse	2,88	88		1,95		3,92	-		
77	Delphine LAB..			3,0	75				6,93			
79	Jean-Marie FAU..	5 A	Prurigo	1,09	76,70				1,41	-		
81	Thierry PER..		Eruption morbil- liforme			7,84						
84	Martine JOL..		Eruption morbil- liforme	1,14	85,10				1,26	-		
47	Zacchia MAA. ½	2 A	Eruption macu- leuse								+ 1/4	
66	Dominique DUB..			1,06	76	1,6		2,6		-		
67	Jean-Luc DEB..		Choroïdite macu- laire	0,17	84	1,39		0,63				
70	Corinne L'HO..	1 A	Oedème de Quincke Erythème	1,81	62,7	1,83		2,51				

83	Robert TAS..	2 A		2,12	3,41	3,89					
87	Emmanuel BAC..	4 A ½	Eruption macu- leuse et papu- leuse	2,46	2,69	2,04					
97	Romain CAL..	2 A ½	Témoin - pas d'accident clinique	0		1,58					
90	Philippe JAM..	4 A	Eruption érythé- mateuse	2,39	1,47	2,15					
98	Séverine RIC..	2 A ½	Eruption macu- leuse	2,08					0,92		

TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE EN PRESENCE D'AMPICILLINE

Cas	NOM	Age	Accident clinique	T	PHA	50 γ	75 γ	125 γ	250 γ	500 γ	750 γ	TTL pénicilline max.	Hémagglutination pénic.
31	Mathilde CAL..	1 A	Malaise avec état de choc	1,20	56,7							6,6 % pour 1000 u/ml	+++ 1/32
33	Haouda TEG..	5 M	Eruption morbilliforme	1,18	71,2		5,21	2,7	2,47			5,48 % à 500 u/ml	-
51	Catherine PCU..	4 A ½	Eruption urticaire des M.S.	0,96	93,9			0,89	1,88			1,94 % à 500 u/ml	-
58	Agnès DEB..	3 A	Eruption pétéchiale	1,72	90	1,56		0,44	0,91			1,52 % à 500 u/ml	-
69	Isabelle GOI..	5 A	Eruption morbilliforme	1,66	96		5,42	5,84				3,47 % à 500 u/ml	-
71	Corinne L'HO..	1 A	Oedème de Quincke Erythème	1,81	62,7		2,35	2,90				2,51 % à 500 u/ml	-
82	Thierry PER..		Eruption morbilliforme							5,88		7,84 % à 500 u/ml	
88	Emmanuel BAC..	4 A ½	Eruption maculopapuleuse	2,46	91			2,15				2,69 % à 500 u/ml	
89	Anne-Claire MER..			0,31	43,6			1,09			0,69		+++ 1/32
91	Philippe JAM..	4 A	Eruption érythémateuse	2,39	60		1,7				0,75	2,15 % à 700 u/ml	
99	Séverine RIC..	2 A	Eruption morbilliforme	2,08	65					1,93		0,92 % à 1000 u/ml	

ALLERGIE A LA CEPHALOSPORINE

Les lymphocytes de 3 enfants ont été cultivés en présence de Céphalosporine et de Pénicilline.

- Chez un malade (74) l'accident clinique n'avait pas une origine médicamenteuse; les 2 tests se sont révélés négatifs.

- Chez les 2 autres malades :

- a) l'un avait une allergie à la pénicilline avec un taux de transformation à la pénicilline de 8,90 %, confirmant une hémagglutination franchement positive. Le test de transformation en présence de Céphalosporine doit être, par contre, considéré comme négatif; mais il existe cependant une différence qui nous paraît significative entre le témoin (1,04%) et la céporine à 50 gammas par ml, au 4^e jour (3,26 %) : une lecture plus tardive, après prolongation de la culture aurait peut-être décelé une transformation plus importante.

La céphalosporine est peut-être un antigène faible lors d'une sensibilisation à la pénicilline. Une sensibilisation croisée n'est donc pas exclue.

- b) L'autre a un test à la céphalosporine franchement positif, le T.T.L. en présence de Pénicilline ayant les mêmes caractères de transformation "Limite".

Ces deux résultats confirment la grande fréquence des sensibilisations croisées entre les Pénicillines et les Céphalosporines.

TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE AVEC CEPHALOSPORINE ET PENICILLINE

Cas	NOMS	Age	Accident clinique	T	PHA	Céporine		Pénicilline			Hémagglut. Péni.
						25%	50%	50u	100u	1000u	
23	Laurence DER..	6 A	Eruption érythémato- maculeuse morbilliforme	1,04	34,4		3,26		8,90	5,8	+++ 1/32
74	Maria GON..		Oedème péri- orbitaire	2,54	67	0,35	0,37	0,86		0,44	
75	Marius AIG..	10 M	Eruption morbilliforme	2,88	88	1,69	8,87		1,95	3,92	-

En présence de gardénal (100 gammas par ml.)
le chiffre de transformation lymphoblastique passait
de 8 % le 4^o jour, à 11,89 % le 5^o jour et à 18,10 %
le 6^o jour.

b) Cas N° 92 :

- Accident cutané à type d'Erythème en aile de papillon,
avec quelques éléments maculo-papuleux, survenu chez
une fille de 14 ans, traitée pour une comitialité par
du gardénal.

La transformation-témoin s'élevait à 3,12 %. La trans-
formation sous gardénal (20 gammas par ml) s'est éle-
vée à 5,84 %.

TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE EN PRESENCE DE GARDENAL

Cas	NOM	Age	Accident clinique	T	PHA	10	20	30	50	100	200	300
9	Bruno COU..	1 A	Choc anaphylactique	5,65	60					1,73	1,39	0,97
13	Isabelle BRO..		Purpura pétéchi- al et ecchymotique	0,58	64					0,61	0,43	
14	Teddy BAU..	3 A	Dermatite érythé- mato-bulleuse type Steven-Johnson	7,81	74,28				5,18	11,89		
44	Nathalie QUI..		Erythème poly- morphe	1,83	18,5				0,56	1,75		
92	Fatima CHÁ..	14 A	Erythème en aile de papillon et éléments maculo- papuleux	3,12	54,78	3,43	5,84	5,41				
96	Romain CAI..		Urticaire	0	>50		0,60					
100	Aimé DRO..			1,68	95,50	0,62	0,64					

T. T. L. EN PRESENCE DE CYCLINES

[illegible]

- Quatre enfants dont l'accident clinique était suspect d'allergie aux cyclines, ont eu un test de transformation lymphoblastique en présence de ce type d'antibiotique (Transcycline).
- Les 4 tests sont négatifs; ce qui confirme la grande rareté de l'allergie à ce type d'antibiotique.
- Nous avons constaté qu'une seule fois (18) l'action inhibitrice des cyclines sur la transformation lymphoblastique.

NAME: _____

TESTS DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE EN PRESENCE

D'ANTIBIOTIQUES

Cas	NOMS	Age	Accident clinique	Antibiotique	X par ml de culture				
					T	PHA	62	125	250
17	Eric BAU..	3 A	Purpura rhumatoïde	Novobiocine	3,25	80,84			4,5
54	Denis ROU..	12 A	Urticaire géant. Oedème de Quincke	Novobiocine	1,93	78		5,3	5,3
18	Eric BAU..	3 A	Purpura rhumatoïde	Cyclines	3,25	80,84		0,90	
27	Isabelle ECC..	4 A ½	Urticaire collapsus	Cyclines	1,5	55	1,20	1,17	
52	Catherine POU..			Cyclines	0,96	93,9	1,71	0,81	
53	Denis ROU..	12 A	Urticaire Oedème de Quincke	Cyclines	1,93	78	2,35	1,61	

T. T. L. EN PRESENCE DE NOVIOBIOCINE

Nous avons effectué deux tests en présence de cet anti-
biotique.

Dans les 2 cas, suspects d'allergie à la Novobiocine nous
avons trouvé un taux de transformation lymphoblastique supé-
rieur à la normale.

Mais dans l'un des cas (17), le témoin présentait un taux
de transformation de 3,25 % rendant difficile l'interprétation.

ACTIVITES BIOLOGIQUES DES LYMPHOCYTES ACTIVES

SUBSTANCES EFFECTRICES LIBEREES PAR LES LYMPHOCYTES

	Poids moléculaire	Destruction				Electrophorèse	Spécificité d'espèce
		Δ 56°	Δ 80°	Phénol	Protéase		
Facteur inhibant la migration des macrophages MIF apparu après 24h. d'incubation	70.000	+	-		+	> Alb. Rf.	+
Facteur lympho- toxique apparu après 36 h. d'incubation	80.000	-		-			-
Facteur dermoreactif	70.000				+	< Alb.	+
Facteur chémotactique	60.000	+				< Alb.	-
Facteur mitogénétique	25.000				-		
Interféron	25.000	+	+		-		+
Anticorps	140.000	+			+	< Alb.	+
Facteur de transfert	apparu après 1 h. d'incubation						
Facteur activant les lymphocytes	apparu après 24 h. d'incubation						

TESTS DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE EN PRESENCE

D'ANTIBIOTIQUES ANTITUBERCULEUX

Cas	NOMS	Age	Accidents cliniques	Antibiotique	Gamma par ml.					
					T	PHA	12,5 %	25 %	50 %	150 %
5	Thierry CHA..	8 A	Urticaire Oedème de Quincke	Streptomycine	1,2	58		1,2		
8	Bruno COU..	1 A	Choc ana- phylactique	Streptomycine	5,7	60		8,1		
11	Blandine SIM..	12 A	Urticaire	Streptomycine	0,37	67		0		
26	Patrick MIC..	9 A ½	Asthme	Streptomycine	0,67	59			0,82	
80	Jean-Marie FAU..	5 A	Prurigo malaise	Streptomycine	1,09	76,78				1,43
94	Danielle BLO..			Trécator	1,03	55			5,45	
40	Florida MAR..			Isoniazide	0,82	62,2			7,69	1
93	Danielle BLO..			Isoniazide	1,03	55	1,05	1,14		

T. T. L. E N P R E S E N C E D E D I V E R S

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31. 32. 33. 34. 35. 36. 37. 38. 39. 40. 41. 42. 43. 44. 45. 46. 47. 48. 49. 50. 51. 52. 53. 54. 55. 56. 57. 58. 59. 60. 61. 62. 63. 64. 65. 66. 67. 68. 69. 70. 71. 72. 73. 74. 75. 76. 77. 78. 79. 80. 81. 82. 83. 84. 85. 86. 87. 88. 89. 90. 91. 92. 93. 94. 95. 96. 97. 98. 99. 100. 101. 102. 103. 104. 105. 106. 107. 108. 109. 110. 111. 112. 113. 114. 115. 116. 117. 118. 119. 120. 121. 122. 123. 124. 125. 126. 127. 128. 129. 130. 131. 132. 133. 134. 135. 136. 137. 138. 139. 140. 141. 142. 143. 144. 145. 146. 147. 148. 149. 150. 151. 152. 153. 154. 155. 156. 157. 158. 159. 160. 161. 162. 163. 164. 165. 166. 167. 168. 169. 170. 171. 172. 173. 174. 175. 176. 177. 178. 179. 180. 181. 182. 183. 184. 185. 186. 187. 188. 189. 190. 191. 192. 193. 194. 195. 196. 197. 198. 199. 200. 201. 202. 203. 204. 205. 206. 207. 208. 209. 210. 211. 212. 213. 214. 215. 216. 217. 218. 219. 220. 221. 222. 223. 224. 225. 226. 227. 228. 229. 230. 231. 232. 233. 234. 235. 236. 237. 238. 239. 240. 241. 242. 243. 244. 245. 246. 247. 248. 249. 250. 251. 252. 253. 254. 255. 256. 257. 258. 259. 260. 261. 262. 263. 264. 265. 266. 267. 268. 269. 270. 271. 272. 273. 274. 275. 276. 277. 278. 279. 280. 281. 282. 283. 284. 285. 286. 287. 288. 289. 290. 291. 292. 293. 294. 295. 296. 297. 298. 299. 300. 301. 302. 303. 304. 305. 306. 307. 308. 309. 310. 311. 312. 313. 314. 315. 316. 317. 318. 319. 320. 321. 322. 323. 324. 325. 326. 327. 328. 329. 330. 331. 332. 333. 334. 335. 336. 337. 338. 339. 340. 341. 342. 343. 344. 345. 346. 347. 348. 349. 350. 351. 352. 353. 354. 355. 356. 357. 358. 359. 360. 361. 362. 363. 364. 365. 366. 367. 368. 369. 370. 371. 372. 373. 374. 375. 376. 377. 378. 379. 380. 381. 382. 383. 384. 385. 386. 387. 388. 389. 390. 391. 392. 393. 394. 395. 396. 397. 398. 399. 400. 401. 402. 403. 404. 405. 406. 407. 408. 409. 410. 411. 412. 413. 414. 415. 416. 417. 418. 419. 420. 421. 422. 423. 424. 425. 426. 427. 428. 429. 430. 431. 432. 433. 434. 435. 436. 437. 438. 439. 440. 441. 442. 443. 444. 445. 446. 447. 448. 449. 450. 451. 452. 453. 454. 455. 456. 457. 458. 459. 460. 461. 462. 463. 464. 465. 466. 467. 468. 469. 470. 471. 472. 473. 474. 475. 476. 477. 478. 479. 480. 481. 482. 483. 484. 485. 486. 487. 488. 489. 490. 491. 492. 493. 494. 495. 496. 497. 498. 499. 500. 501. 502. 503. 504. 505. 506. 507. 508. 509. 510. 511. 512. 513. 514. 515. 516. 517. 518. 519. 520. 521. 522. 523. 524. 525. 526. 527. 528. 529. 530. 531. 532. 533. 534. 535. 536. 537. 538. 539. 540. 541. 542. 543. 544. 545. 546. 547. 548. 549. 550. 551. 552. 553. 554. 555. 556. 557. 558. 559. 560. 561. 562. 563. 564. 565. 566. 567. 568. 569. 570. 571. 572. 573. 574. 575. 576. 577. 578. 579. 580. 581. 582. 583. 584. 585. 586. 587. 588. 589. 590. 591. 592. 593. 594. 595. 596. 597. 598. 599. 600. 601. 602. 603. 604. 605. 606. 607. 608. 609. 610. 611. 612. 613. 614. 615. 616. 617. 618. 619. 620. 621. 622. 623. 624. 625. 626. 627. 628. 629. 630. 631. 632. 633. 634. 635. 636. 637. 638. 639. 640. 641. 642. 643. 644. 645. 646. 647. 648. 649. 650. 651. 652. 653. 654. 655. 656. 657. 658. 659. 660. 661. 662. 663. 664. 665. 666. 667. 668. 669. 670. 671. 672. 673. 674. 675. 676. 677. 678. 679. 680. 681. 682. 683. 684. 685. 686. 687. 688. 689. 690. 691. 692. 693. 694. 695. 696. 697. 698. 699. 700. 701. 702. 703. 704. 705. 706. 707. 708. 709. 710. 711. 712. 713. 714. 715. 716. 717. 718. 719. 720. 721. 722. 723. 724. 725. 726. 727. 728. 729. 730. 731. 732. 733. 734. 735. 736. 737. 738. 739. 740. 741. 742. 743. 744. 745. 746. 747. 748. 749. 750. 751. 752. 753. 754. 755. 756. 757. 758. 759. 760. 761. 762. 763. 764. 765. 766. 767. 768. 769. 770. 771. 772. 773. 774. 775. 776. 777. 778. 779. 780. 781. 782. 783. 784. 785. 786. 787. 788. 789. 790. 791. 792. 793. 794. 795. 796. 797. 798. 799. 800. 801. 802. 803. 804. 805. 806. 807. 808. 809. 810. 811. 812. 813. 814. 815. 816. 817. 818. 819. 820. 821. 822. 823. 824. 825. 826. 827. 828. 829. 830. 831. 832. 833. 834. 835. 836. 837. 838. 839. 840.

M E D I C A M E N T S

Activity **Structure** **Strategy** **Process** **Service** **Planning** **Support** **Change** **Learning** **Security** **Others**

Des tests de transformation lymphoblastique ont été faits en présence de différents médicaments, sulfamides, acide nicotinique, eurobiol, xylocaïne, produits iodés, aspirine.

Dans ces premiers résultats exposés, ils n'ont pas permis de mettre en évidence de transformation lymphoblastique prouvant la responsabilité des médicaments.

Copyright © 2004 by John Wiley & Sons, Inc.

TESTS DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE EN PRESENCE DE

MEDICAMENTS DIVERS

| Cas | NOMS | Age | Accident
clinique | Produits | χ par ml de culture | | | | | | | |
|-----|-------------------|----------|--------------------------|----------------------|--------------------------|-------|----|-----|------|------|------|------|
| | | | | | T | PHA | 20 | 35 | 75 | 100 | 150 | |
| 29 | Isabelle
ECC.. | 4 A
½ | Urticaire | Sulfamides | 1,5 | 55 | | | | | 1,13 | |
| 49 | Linda
HAD.. | 9 A | Erythème
nouveux | Ac. nicoti-
nique | 0,2 | 50,2 | | 1,2 | 0,7 | | | |
| 78 | Alfredo
ORT.. | 4 A | Neutropénie | Eurobiol | | 66,9 | | | | | 0,76 | |
| 85 | Martine
JOL.. | 16 A | Perte de
connaissance | Xylocaïne | 1,14 | 85,10 | | | | | | 1,42 |
| 86 | Martine
JOL.. | 16 A | Perte de
connaissance | Contrix | 1,14 | 85,10 | | | 0,29 | 0,73 | | |
| 95 | Romain
CAI.. | | Urticaire | Aspirine | 0 | 56 | 0 | | | | | |

DISCUSSION SUR LES RESULTATS

Cette technique de transformation lymphoblastique, facilement réalisable chez l'enfant, présente un grand intérêt dans l'enquête allergologique d'une suspicion d'hypersensibilité médicamenteuse.

Le test permet dans un grand nombre de cas d'affirmer l'origine allergique, et la nature du constituant allergénique ayant déclenché l'accident clinique.

Dans notre série, nous avons ainsi pu vérifier "in vitro", la transformation pathologique des lymphocytes en présence de multiples substances médicamenteuses.

Les comparaisons statistiques sont actuellement difficiles; le test commence seulement à être effectué dans de nombreux laboratoires. Il existe de nombreuses variantes techniques qui rendent les chiffres obtenus difficilement comparables.

Ce qui compte, en fait, est l'étude de la corrélation entre la clinique et les tests nous permettant d'apprécier le pourcentage de résultats concordants ou discordants.

C'est dans l'allergie à la pénicilline, sans doute la plus répandue, que les comparaisons statistiques peuvent être faites.

Nous n'avons jamais retrouvé de test positif chez des sujets ne présentant aucune manifestation d'hypersensibilité médicamenteuse à la Pénicilline.

Par contre, il existe un certain nombre de résultats négatifs, malgré l'existence de manifestations d'hypersensibilité prouvées.

Dans notre expérience nous avons eu 9,10 % de résultats discordants (Faussement négatifs).

Ces chiffres correspondent aux résultats publiés par d'autres auteurs (DECOURT : 9,26 %) (KOCHMAN : 19,45 %) cf. tableau.

Si l'on compare ces résultats à ceux des autres tests d'exploration allergologique, il est certain que le T.T.L. représente actuellement le meilleur test d'exploration allergologique.

Le pourcentage de fausses réponses négatives peut d'ailleurs être réduit en améliorant la technique, en tenant compte avec rigueur des éléments du dossier clinique du malade et des thérapeutiques utilisées.

Dans ces conditions de rigueur dans la conduite du test, sa lecture et son interprétation, il est certain que :

1° - Le Test de Transformation Lymphoblastique est un examen biologique d'un grand intérêt pratique :

- reposant sur les données fondamentales de l'immunologie, tant cellulaire qu'humorale.

- permettant la détection des sensibilisations à tous les types d'allergènes, antigène complet ou incomplet, médicaments les plus variés, d'utilisation générale ou locale.

- détectant aussi bien les réactions allergiques de type immédiat que de type retardé.

- techniquement réalisable même chez l'enfant et le nourrisson.

- et surtout d'une totale innocuité pour le malade par opposition aux tests cutanés dont on connaît les risques.

2° - Le Test de transformation Lymphoblastique est sensible

- Les lymphocytes sensibilisés réagissent à des doses très faibles d'antigène ; la sensibilité du test est accrue en utilisant une gamme de dilution pour chaque malade qui permet de dé-

tecter la concentration optimum d'antigène entraînant la transformation lymphoblastique la meilleure.

- Le T.T.L. permet dans une association médicamenteuse de retrouver l'antigène responsable de l'accident allergique, il permet parfois de détecter une sensibilisation croisée, capitale à connaître pour la prévention clinique.

- Le T.T.L. est plus sensible que les réactions d'héماغlutination, le test de Shelley, les tests cutanés, patch-test, cuti, I.D. réaction.

3° - Le Test de Transformation Lymphoblastique est spécifique

La transformation lymphoblastique ne concerne que les cellules immunologiquement compétentes préalablement sensibilisées à un antigène.

Il est établi qu'un antigène entraînant une transformation "in vitro" est capable de déclencher des accidents allergiques "in vivo" chez les sujets testés.

Le risque d'erreur par excès, de fausses réponses positives est réduit au maximum dans la mesure où l'on tient compte des résultats des tubes témoins, identifiant les transformations spontanées.

4° - Le Test de Transformation Lymphoblastique est fidèle

Un test positif à un antigène donné fournira la même réponse pendant plusieurs années, tant que subsisteront les lymphocytes compétents et sensibilisés à l'antigène spécifique, conservant ainsi cette information antigénique.

Cette fidélité du test est une de ses qualités majeures; il peut être effectué à plusieurs reprises, permettant un contrôle dans les cas douteux.

Les seuls facteurs de variation dont il faut tenir compte alors, sont les traitements inhibiteurs, et les affections gé-

nérales modifiant les réponses immunitaires de l'organisme.

5° - Le Test de Transformation Lymphoblastique n'est pas exempt de toute critique

- Il n'existe pas de corrélation entre la gravité des accidents cliniques et le degré de transformation lymphoblastique.

- Le T.T.L. permet une étude globale de la réaction immunitaire, ne précisant pas la nature exacte des anticorps libérés intervenant dans le déclenchement des accidents cliniques.

- Il existe des erreurs par défaut qui doivent être réduites par les progrès dans la technique de culture, la préparation des antigènes (de plus en plus purifiés si possible), l'étude du contexte clinique, et le renouvellement du test en cas de la moindre suspicion d'erreur.

- Mais l'inconvénient majeur de ce test est lié aux difficultés et à la durée de sa réalisation.

Il relève de 2 techniques très spécialisées :

- a) d'une part la culture cellulaire, qui nécessite un équipement très spécialisé, et un personnel très habitué aux règles de cette technique (verrerie, mise en culture, stérilité, surveillance ...)
- b) d'autre part l'identification cytologique qui nécessite, outre le temps prolongé de lecture, une parfaite connaissance des critères cytologiques d'identification cellulaire, et une habitude de la lecture des transformations lymphoblastiques.

D'autres améliorations et simplifications techniques sont donc encore nécessaires pour que les T.T.L. deviennent un examen biologique de routine, utilisable dans de très nombreux laboratoires.

| | | |
|------------------|---|---|
| CLINIQUE | + | |
| TTL | + | - |
| HEMAGGLUTINATION | + | - |
| TESTS CUTANES | + | - |

| | | |
|------------------|---|---|
| CLINIQUE | - | |
| TTL | - | |
| HEMAGGLUTINATION | - | + |
| TESTS CUTANES | - | + |

CORRELATION ENTRE LA CLINIQUE, ET LES TESTS, DANS
L'ALLERGIE A LA PENICILLINE

| | |
|----------|---|
| CLINIQUE | + |
| TTL | - |

| | |
|----------|---|
| CLINIQUE | - |
| TTL | - |

| | |
|----------|---|
| CLINIQUE | + |
| TTL | - |

KOCHMAN et coll.

DECOURT

B) Il réalise ainsi une méthode répondant aux exigences
d'inocuité
de spécificité
de sensibilité
et de fidélité

ce qui semble actuellement le privilégier par rapport aux autres méthodes connues d'exploration allergologique.

L'analyse des résultats de plus de 100 allergènes constitués de médicaments d'utilisation courante, testés par cette méthode, et confrontés à l'étude des manifestations cliniques, et aux résultats d'éventuels épreuves allergologiques complémentaires :

tests cutanés
hémagglutination passive
inhibition de la migration des macrophages
dégranulation des leucocytes
anaphylaxie passive in vitro.

permet de conclure au grand intérêt de ce test. Le test de transformation lymphoblastique semble plus sensible et plus fidèle que les autres tests.

Nos résultats concordent avec ceux publiés dans la littérature.

Mais ce test biologique est soumis aux contraintes des méthodes de culture cellulaires. Il nécessite donc un grand nombre d'impératifs techniques dans les méthodes, de prélèvement, de dilution d'antigènes, de mise en culture, de surveillance des cultures, d'étalement et de lecture : sa réalisation reste donc délicate.

Enfin la confrontation des résultats avec la chronologie clinique des accidents, et la prise médicamenteuse doit être rigoureuse en vue d'une interprétation définitive, et des décisions thérapeutiques qui peuvent en découler.

VU, le Président de Thèse,

M. le Professeur P. ROYER

VU, le Doyen,

M.le Professeur P. FREZAL

VU, le Recteur,

M. MALLET

- BENNICH H., HOGMAN C., JOHANSSON S.G.O. et WIDE L. -
Allergies, réagine et IgE
Le Concours Médical, 1968, 9, 11, 90, 45.
- BERMAN L. and STULBERG C.S. -
Primary culture of macrophage from normal human peripheral
blood.
Lab. Invest. 1962, 11, 1322-1331.
- BINET J.P., VILLENEUSE, PAVLOVSKY -
Cinq méthodes d'exploration des cellules immunologiquement
compétentes.
Gazette Med. de France 1967, p. 2847-2851.
- BIOZZI C., STIFFEL D., MOUTON Y., BOUTHILLIER et DECREUSEFOND C.-
Etude des cellules productrices d'anticorps par la méthode
de l'immunofluorescence.
Extrait de Pathologie Biolog. 1967, 15, 402, 409.
- BONA C., ROBINEAUX R. et Melles ANREUNIS A., CHAUVET G. -
Etude ultrastructurale de la T. blastique des lymphocytes
ganglionnaires de cobaye sous l'action de l'ARN immunogène.
C.R. Acad. Sc. Paris 1969, 269, 14, 1359-1365.
- BRANDT L., BORJESON T., NORDEN A. and OLSSON I. -
Separation of lymphocytes from peripheral blood by means
of a glass column. A method for the in vitro culture of
lymphocytes.
Acta Med. Scand. 1962, 172, 459.
- BRECHER G. and TANAKA Y. -
Lysosomes and lymphocyte response.
Lancet, 1965, 2, 595.
- BUGNON C., LAUGIER P., Mmes LENYS D., MOREAU N. et BARALE T. -
Application du test de transformation lymphoblastique (TTL)
dans les allergies médicamenteuses.
Soc. Fr. Dermat. et Syphil. 1968, 75, 670-682.
- CARON G.A. -
The effect of antigens in combination on lymphocyte trans-
formation in vitro.
Int. Arch. Allergy 1967, 31, 521-528.
- CARON G.A. -
The effect of concentration on antigen induced lymphocyte
transformation in vitro.
Int. Arch. Allergy 1967, 31, 441-448.

CARON G.A., SARMA Y.I., WILLIAMS H.S., TODD A.P. and GELL H.M.C. -
Radioactive method for the measurement of lymphocyte transformation in vitro.
Lancet, 1966, 2, 1266-1268.

CARON G.A. -
Duration of exposure of lymphocytes to antigen in vitro needed to induce blast transformation.
Int. Ach. Allerg. 1967, 32, 98-103.

CARON G.A. -
Prednisolone inhibition of D.N.A. synthesis by human lymphocytes induced in vitro by phytohaemagglutinine.
Int. Arch. allergy. 1967, 32, 191-200.

CARSTAIRS K. -
The human small lymphocyte its possible pluri-potential quality.
Lancet 1962, 1, 829.

CAZAL P. -
L'apparente qualité du système lymphoïde, sa signification physiologique dans l'immunité et la tolérance.
Presse Med. 1966, 74, N° 47, 2401-2404.
1966, 74, N° 48, 2469-2474.

CHALMERS D.G., COOPER, EVANS, TOPPING -
Quantitation of the response of lymphocytes in culture of specific and non specific stimulation.
Int. Arch. of Allergy 32, 117, 1967.

COOPER E.H. et AMIEL J.L. -
Prolifération des lymphocytes humaines in vitro
Rev. franç. d'études clin. et biolog. 1965, 10, 469-487.

COOPER E.H. et NILTON J.D. -
The incorporation and degradation of pyrimidine DNA precursors by human leucocytes.
Brit. J. Cancer, 1964, 18, 701.

COOPER H.L. and RUBIN A.D. -
Lymphocytes RNA metabolism; comparaison between antigen and phytohaemagglutinin stimulation.
Lancet 1965 a, 2, 723-724.

COOPER H.L. and RUBIN A.D. -
RNA metabolism in lymphocytes stimulated by phytohaemagglutinin : initial responses to phytohaemagglutinin.
Blood 1965, 25, 1014-1027.

COULSON A.D. -

The golgi apparatus in small lymphocytes and in transformed blast cells.

Quarterly. Jour. of Exp. Physio. 1965, 50, 271-275.

COURT J.M. -

Contribution à l'étude de la détection des allergies médicamenteuses par le test de transformation lymphoblastique. Thèse Besançon 1969, N° 55.

COWLING D.C., QUAGLINO D., DAVIDSON E. -

Changes induced by tuberculin in leucocyte cultures. Lancet, 1963, 1, 1091-1094.

COWLING D.C. and QUAGLINO D. -

Effect of some antigens on leucocyte culture. J. Pathol. bacteriol. 1965, 89, 63-70.

DANIELS J.C., RITZMANN S.E., LEVIN W.C. -

Lymphocytes morphological developmental and functional characteristics in health, disease, and experimental study. An analytical review.

Texas Reports on biologie and Medecine, 1968, 26, 1.

DEBRAY J., GALLAND A., PAUPE J. et NEZELOF C. -

Les carences immunitaires.

Concours Medical 1968, 16, 11, 90-46.

DE WECK A.L. -

Penicillin allergy : its detection by an improved hemagglutination technique.

Nature, 1964, 202, 975.

DE WECK A.L., BLUM G. -

Prevention of allergic reactions to penicillin.

A critical evaluation of present attitude.

Sixth. Europ. Congr. Allergol. Stockholm, Sept. 1965.

DIETER W., CUMP F., ROBERTFEKETY J.R., URBANETTI J. and NOSENZO C. -

Studies of human leucocyte culture as an in vitro TEST of delayed hypersensitivity.

American Review of respiratory disease, 1967, 95, 3.

DOUGLAS S.D., BOJERSON L., CHESSIN I.N. -

Studies on human lymphocytes in vitro.

The journal of immunologie, 1967, 99, 340-346.

- DUCOS J., COLOMBIES P., SALLES-MOURIAK A.M. -
Influence du volume total du milieu de culture et de sa concentration en protéines humaines sur la transformation lymphoblastique des lymphocytes.
Soc. Biol., 1967, 161, 1452.
- ELVES M.W., ROATH S., ISRAELS M.C.G. -
The reponse of lymphocyte challenge in vitro.
Lancet, 1963, 1, 806.
- ELVES M.W., ROATH S., TAYLOR G., ISRAELS M.C.G. -
The in vitro production of antibody lymphocytes.
Lancet, 1963, 1, 1292.
- ELVES M.W., GOUGH J., ISRAELS M.C.G. -
The place of the lymphocyte in the reticulo endothelial system. A study of the in vitro effect of prednisolone on lymphocytes.
Acta Haemat. 1964, 32, 100-107.
- ELVES M.W. and ISRAELS M.C.G. -
Lymphocyte transformation in cultures of mixed leucocytes. A possible test of histocompatibility.
Lancet, 1965, 1, 1184-1186.
- EPSTEIN L.B. and STOHLMAN F.J. -
RNA synthesis in cultures of normal peripheral mononuclear leukocytes. A radio autographic study.
Acta haemat. 1963, 30, 129-137.
- EPSTEIN W., KLIGMAN A.M., SERRECAL J.P. -
Role of regional lymph nodes in contact sensitization.
Arch. Dermat. 1963, 88, 789.
- FAGRAEUS A. -
Antibody production in relation to the developpment of plasma cells.
Essete A.B. Stockholm 1958.
- FELLNER M.J., BAER R.L., RIPPS C.S. et HIRSCHORN V. -
Response of lymphocytes to penicillin comparaisn with skin tests and circulating antibodies in man.
Nature, 1967, 216, 803-804.
- FICHTELIUS R.E. -
A simple methode to separate lymphocytes from the blood.
Acta Soc. Med. Upsal. 1951, 56, 27.

FORBES I.J. -

Specific and non specific stimulation of antibody synthesis by human leucocytes in vitro.
Lancet 1965, 1, 198-199.

FREIESLEBEN SORENDEN S., NIELSEN F.K. -

Studies on the quantitation of the lymphocyte response in vitro.
Acta path. Microbiol. Scand. 1969, 77, 117-133.

FRIED D., BRYON P.A., BRUNAT N., BROCHIER J., REVILLARD J.P. et TRAEGER J. -

Etude au M.E. de l'activité ATP des membranes cytoplasmiques des lymphocytes stimulés in vitro.
Path. Biol. Sem. Hop. 1967, 15, 250-256.

GANTNER Jr. G.E. and ZUCKNER J. -

Salicylate suppression of lymphocyte transformation.
Arthritis Rheumat., 1965, 8, 443.

GEIGER W.B. and ALPERS H.S. -

The mechanism of the Schultz - Dale reaction.
J. Allergy 1959, 10, 316-326.

GERVAIS P., GARELLY E., MORAULTS et REINBERG A. -

La test de la fenêfre dermique en allergologie.
Rev. Franç. Allergie Avril - Juin 1967.

GILL F.A. -

The association of increased spontaneous lymphocyte transformation in vitro with clinical manifestations of drug hypersensitivity.
J. Immunol. 1967, 98, 778-785.

GIRARD J.P. -

Valeur du test d'inhibition de la migration des cellules lymphoïdes in vitro appliqué au diagnostic des allergies médicamenteuses.
Schweiz., med. Wschr., 1968, 42, 1655-1656.

GIRARD J.P. -

Composants antigéniques communs à la Pénicilline, l'Ampicilline et la Céphalosporine démontrés chez l'homme.
Int. Arch. Allergy 33, 428-438, 1968.

GIRARD J.P. -

Studies on rabbit peripheral lymphocytes
1. DNA and antibody synthesis in vitro, following antigenic stimulus.
Acta haemat., 1968, 39, 223-236.

GIRARD J.P. -

Studies on human peripheral lymphocytes antibody and DNA synthesis and incorporation of ¹⁴C labelled amino acids following antigenic stimulus.

Helvetica Medica Acta, 1968, 34, 191-204.

GIRARD J.P. and SCHWARTZ H. -

Serum haemagglutinating antibody in streptomycin allergy.

Med. Pharmacol. Exp. 1967, 17, 466-474.

GIRARD J.P., ROSE N.T., WISCHER K., KOBAYASHI S. and ARBESMAN C.E. -

Quantitative determination of reaginic antibodies by the schultz Dale Technique.

Symp. series immunological standard. 1967, 4, 191-212.

GIRARD J.P., ROSE N.R., KUNZ M.L., KOBAYASKI S. et ARBESMAN C.E.-

In vitro lymphocyte transformation in atopic patients induced by antigens.

J. Allergy, 1967, 39, 65-81.

GIRARD J.P. -

Antibody synthesis in vitro by human peripheral lymphocytes.

Int. Ach. Allergy 1967, 32, 294-307

GOOD R.A., GABRIELSEN A.E., PETERSON R.D., COOPER M.D. -

The central lymphoid tissue in developmental immunology.

Ann. Int. Med. 1966, 64, 180.

GOWANS J.L., Mc GREGOR D.D., COWEN D. and FORD C.E. -

Initiation of immune responses by small lymphocytes.

Nature, 1962, 196, 651.

GRUCHAUD S. et FREI P.C. -

Nouvelle technique de détection des anticorps sur les lymphocytes circulants dans l'allergie médicamenteuse.

Symposium allergo. 1967, Prague 208.

QUAGLINO D., HAYHOE F.C.J., FLEMENS R.J. -

Cytochemical studies on the effect of PHA in short term tissue cultures.

Nature, 1962, 195, 338-340.

HALPERN B., KY N.T., AMACHE N., LAGRUE G. et HAZARD J. -

Diagnostic de l'allergie médicamenteuse in vitro par l'utilisation du test de transformation lymphoblastique (TTL).

Presse Médicale 1967, 89, 1186, 1189.

- HALPERN B., KY N.T. and AMACHE N. -
Diagnosis of drug allergy in vitro with the lymphocyte transformation test.
J. Allergy, 1967, 40, 166-181.
- HALPERN B., ROBINEAUX R., KOURILSKY R., LEPINAY A. et LIACOPOULOS-BRIOT M. -
Etude morphodynamique et ultrastructurale de la stimulation lymphocytaire par la PHA.
Bull. Soc. Chim. Biol. 1968, 50, 1059.
- HARRELL B.E. and MERCHANT B. -
A hemolytic plaque technic for enumeration of cells producing antibody against penicillin.
Internat. Arch. Allergy, 1967.
- HARREL B.E., WRIGHT W., MERCHANT B. -
Cells producing antibody to penicillin.
Int. Arch. Allerg. 1967, 32, 282-287.
- HARRIS T.N., GRIMM E., MERTENS E. et EHRLICH W.E. -
The role of the lymphocyte in antibody formation.
J. Exp. Med. 1945, 81, 73.
- HARRIS T.N. and HARRIS S. -
Histochemical changes in lymphocytes during the production of antibodies in lymph nodes of rabbits.
J. Exp. Med., 1949, 90, 169.
- HARRIS S., HARRIS T.N. -
Studies on the transfer of lymph node cells III.
Effects of variation in the interval, between the infection of antigen into the donor and collection of its lymph node cells.
J. Exp. Med., 1954, 100, 269.
- HARRIS H. -
Transfer of radioactivity from nuclear to cytoplasmic RNA.
Nature, 1964, 202, 249-250.
- HASHEM N. -
Blastoid transformation of lymphocytes.
Lancet 1965, 2, 742.
- HASTING J., FRIEDMAN S., RENDON O., COOPER H.L. and HIRSCHORN K.
Culture of human white cells using differential leucocyte separation.
Nature 1961, 192, 1214-1215.

- HAYHOE F.G.J. and QUAGLINO D. -
Autoradiographie investigations of RNA and DNA metabolism
of human leucocytes cultured with phytohaemagglutinin -
Uridine 5^3 H as a specific precursor of RNA.
Nature, 1965, 205, 151-154.
- HEITMAN H.J. -
Fluorescence and blast transformation.
Lancet, 1967 b, 2, 419.
- HEITMAN H.J. -
Zur methodik der lymphocytenkultur als allergie-test.
Der hauterzt, 1967 a, 18, 152-156.
- HELANDER A. -
The internist and allergic drug reaction.
Acta Allergol. 19.2, 103-110, 1964.
- HERSH E.M. and OPPENHEIM J.J. -
Inhibition of in vitro lymphocytes transformation during
chemotherapy in man.
Cancer Research., 1967, 27, 98-105.
- HIRSCHHORN K., BACH F., FOLODNY R.L., FIRSCHEIN I.L. et HASHEM -
Immune response and mitosis of human peripheral blood
lymphocytes in vitro.
Sciences, 1963, 142, 1185-1187.
- HIRSCHHORN K. and SCHREIBMAN R.R. -
The action of streptolysin on peripheral lymphocytes of
normal subjects and patients with a cute rheumatic fever.
Proc. Nat. Acad. Sci., 1964, 52, 1151-1157.
- HIRSCHHORN K., SCHREIBMAN R.R., BACH F.M. and SILTZBACH L.E. -
In vitro studies of lymphocytes from patients with sar-
coïdosis and lympho proliferative diseases.
Lancet, 1964, 2, 842.
- HIRSCHHORN R., KAPLAN G., HIRSCHHORN K. and WEISMAN G. -
Appearance of lysosomes before mitosis induced in human
lymphocytes by phytohaemagglutinin.
Clin. Res., 1964, 12, 449.
- HIRSCHHORN R., KAPLAN J.M., GOLDBERG A., HIRSCHHORN K. and
WEISSMAN G. -
Acide phosphatase rich granules in human lymphocytes indu-
ced by phyto haemagglutinin.
Science, 1965.

HIRSCHHORN K. -

The mitogenic effect of different substances on lymphocytes in tissue culture in : concepts of auto-immunity and their application in hematology.

Bjorkman S.E., ed. Series haematologie 1965.

HOLLAND P., MAUER A.L. -

Drug induced in vitro stimulation of peripheral lymphocytes.

The Lancet, 1964, 1, 1368.

HUMMLER K., HARRIS S., and HARRIS T.N. -

Fine structure of some antibody producing cells.

Fed. Proced., 1966, 25, 6.

HURVITZ D. and HIRSCHHORN K. -

Suppression of in vitro lymphocyte responses by chloroquine.

New. Eng. J. Med. 1965, 273, 23-26.

KARAM B.V. and SCHRECK R. -

Effect of age species on sensitivity of lymphocytes to prednisone and PHA.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1967, 125, 871-874.

KAY J.E. -

RNA and protein synthesis in lymphocytes incubated with PHA in : the biological effects of PHA.

The Roberts Jones and Agnes hunt orthopaedie hospital management comittee.

Oswestry, England, 1966, 37-52.

KAY J.E. and KORNER A. -

Effect of cyclohexemide on protein and ribonucleic acid synthesis in cultured human lymphocytes.

Biochem. J., 1966, 100, 815-822.

KOCHMAN S., CHARREIRE J., DOCO et DUBOIS DE MONTREYNAUD J.M. -

Intérêt du test de transformation lymphoblastique dans le diagnostic de l'hypersensibilité retardée, et l'intolérance médicamenteuse.

Presse Médicale, 1969, 77, N° 52, p. 1944.

KUNZ M.L., REISMAN R.E. and ARBESMAN C.E. -

Evaluation of penicillin hypersensitivity by two newer immunological procedures.

J. Allergy, 1967, 40, 135-144.

- KY N.T., HALPERN B.N., LAGRUE G., LANGLOIS C. -
La transformation lymphoblastique in vitro des lymphocytes sanguins appliquée à l'étude de l'allergie microbienne.
Press. Med. 1966, 74, 1119.
- LANDSTEINER K. and CHASE M.W. -
Experiments on transfer of cutaneous sensitivity to simple chemical compounds.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1942, 49, 688-690.
- LAUGIER J., MIKOL Cl., PAUPÉ J., BRUNET D. et VIALATTE J. -
Application d'une technique d'hémagglutination à l'étude de l'allergie à la pénicilline.
Rev. Franç. Allerg. 1967, 1, 2.
- LAWRENCE H.S., ALASKARI S., DAVID J., FRANKLIN E.C. and ZWEIMAN B. -
Transfer of immunological information with dialysats of leucocyte extracts in humans.
Trans. Ass. An. Phys. 1963, 76, 84-91.
- LEVINE B.B. -
Immunologic mechanisms of penicillin allergy.
J. Med. New. Engl. 1966, 275, 1115.
- LEVINE B., REDMOND AP. -
"Nature des complexes antigènes-anticorps provoquant la réaction spécifique oedémateuse et érythémateuse chez l'homme sensibilisé".
Journal of Clinical Investigation 1968, 47, N° 3, pp. 556-567.
- LEVINE B.B. et ZIOLOV D.M. -
Further studies on the prediction of penicillin allergy by immunological tests.
Am. Acad. Allergy 1968, 3, 2.
- LING N.R. and HUSBAND E.M. -
Specific and non specific stimulation of peripheral lymphocytes.
Lancet 1964, 1, 363-365.
- LOBB N. -
The synthesis of immunoglobulin G by cultured human lymphocytes.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 1968, 46, 397-405.

- LYCETTE R.R. and PEARMAIN G.E. -
Further observations on antigen induced mitosis.
Lancet 1963, 2, 368.
- Mc INTYRE O.R. and EBAUGH F.Q.J. -
The effect of PHA on leucocyte cultures as measured by P 32
incorporation in the DNA, RNA and acide soluble fractions.
Blood, 1962, 19, 443-453.
- MANNICK J.A. and EGDAHL R.H. -
Ribonucleic acid in transformation of lymphoid cells.
Science 1962 a, 137, 967-977.
- MANNICK J.A. and EGDAHL R.H. -
Transformation of non immune lymph node cells to state of
transplantation immunity by RNA. A preliminary report.
Ann. Surg., 1962 b, 156, 356-366.
- MARSHALL W.H. and ROBERTS K.B. -
The growth and mitosis of human small lymphocytes after
incubation with a PHA.
Quart. J. Exp. Physiol. 1963, 48, 146-155.
- MARSHALL W.H. and ROBERTS K.B. -
Tuberculin induced mitosis in peripheral blood leucocytes.
Lancet, 1963, 1, 1091-1094.
- MASSIE F.S. and FRICK O.L. -
Kinetics of cells producing antibodies to penicillin stu-
died by plaque essay.
J. Allergy 1967, 40, 215-223.
- MAZZEI D. -
Blasts in lymphocyte cultures.
Lancet 1967, 1, 1380.
- MELLORS R.C. and KORNGOLD -
The cellular origin of human immunoglobulin.
J. Exper. Med., 1964, 118, 387.
- MENARD E., SABBAAH A. -
Intérêt du test de transformation lymphoblastique dans le
diagnostic de l'hypersensibilité aux hormones génitales.
J. des Agrégés 1970, 3, N° 1, 53-55.
- MERCHANT B. and HRABA T. -
Lymphoid cells producing antibody against simple haptens :
detection and enumeration.
Science 1966, 152, 1378.

- MICHALOWSKI A., JASINSKA J., BRZOSKOW and NOWOSLAWSKI A. -
Studies on PHA II. Cellular localization of PHA in white
blood cell cultures with immuno-histochemical methods.
Exp. Med. Microb. 1965, 17, 197-203.
- MICHALOWSKI A. -
Time course of DNA synthesis in human leucocyte cultures.
Exp. Cell. Res. 1963, 7, 609-612.
- MIKOL C., RENOUX M. -
La réaction au latex-histamine, test d'allergie humorale.
P. Médicale 72, 16, 919-922, Mars 1964.
- MONJARDINO J.P.P.V. and MAC GILLIVRAY A.J. -
Ribonucleic acid synthesis by human lymphocytes.
Biochem. J. 1966, 101, 26 p.
- MOORHEAD J.F., CONNOLLY J.J. and Mc FARLAND W. -
Factors affecting the reactivity of human lymphocytes in
vitro.
Jour. Immunol. 1967, 99.
- NEU R., ASPILLAGA M.J. and GARDNER L.I. -
Effects of antibodies on chromosomes of cultured human
leucocytes.
Nature, 1965, 205, 171-172.
- NOTA N.R., LIACOPOULOS-BRIOT M., STIFFEL C. et BIOZZI G. -
L'immunocytoadhérence : une méthode simple et quantitative
pour l'étude in vitro des cellules productrices d'anticorps.
C.R. Acad. Sci., 1964, 259, 1277-1280.
- NOWELL P.C. -
Phytohemagglutinin : an initiator of mitosis in cultures
of normal human leucocytes.
Cancer, Res. 1960, 20, 462-466.
- NOWELL P.C. -
Differentiation of human leucocytes in tissue cultures.
Exp. Cell. Res. 1960, 19, 267.
- NOWELL P.C. -
Inhibition of human leucocyte mitosis by prednisone in vitro.
Cancer, Res., 1961, 21, 1581.
- OPOLON P., CARTRON J., CHICOT D., CAROLI J. -
Application du test de transformation lymphoblastique (TTL)
au diagnostic de certaines hépatites médicamenteuses.
Presse Médicale 1969, 77, N° 54, p. 2041-2044.

OPPENHEIM J.J. -

Relation ship of in vitro lymphocyte transformation to delayed hypersensitivity in guinea pigs and man.
Fred. Am. Soc. Exp. Biol. 1968, 27, 121.

OSGOOD E.E. and KRIPPAEHNE M.L. -

Tissue culture method.
Exp. Cell. Res. 1955, 2, 116.

PARENTI F., FRANCESCHINI P., FORTI G. and CEPPELLINI R. -

The effect of Phytohaemagglutinin on the metabolism and by globulin synthesis of human lymphocytes.
Biochim. Biophys. Acta 1966, 123-181.

PARKER J.W., WAKASA H. and LUKES R.J. -

The morphologie and cytochemical demonstration of lysosomes in lymphocytes incubated with PHA by electron microscopy.
Lab. Invest. 1965, 14, 1736-1743.

PAULING L. -

Theory of structure and process of formation of antibodies.
J. Amer. Chem. Soc., 1940, 62, 2643.

PAUPE J., VIALATTE J., MIKOL C., RENOUX M., BRUNET D. -

The histamine latex passive agglutination test among the allergic children.
Sixth. Europ. Congr. Allerg. Stockholm, Sept. 1965.

PERMAIN G., LYCETTE R.R. and FITZGERALD -

Tuberculin induced mitosis in peripheral blood leucocytes.
Lancet, 1963, 1, 637.

PICK E., CECK K., TURK J.L., KREJCL J. -

Interaction between "Sensitized lymphocytes" and antigen "in vitro".
I. the release of a skin reactive factor.
Immunology 1969, 17, 741-767.

PINON C. -

L'allergie médicamenteuse et son diagnostic par le test de transformation lymphoblastique (TTL).
Thèse Med. Paris 1968 - 515.

PISCIOTTA D.V. and DEPREY D. -

Inhibition of mitosis by chloramphenicol in PHA stimulated lymphocytes.
Blood, 1967, 30, 457-463.

- PORTOLES A. and TESERINA G. -
Immunofluorescence technique to detect antipenicillin
antibody.
Experientia 1967, 23, 77.
- POSSNEROVA V. and SMETANA K. -
The morphology of nuclei of lymphocytes in peripheral
human blood after short time cultivation in vitro.
Folia Morpho 1966, 14.
- RADERMECKER M. et SALMON S. -
Etude de la séroagglutination d'hématies "pénicillinées"
chez l'homme allergique et non allergique à la Pénicilline.
Acta Allergol. 1966, 21, 283.
- RAZAVIL -
Cytoplasmic localization of PHA in peripheral white cells.
Nature 1966, 210, 444-445.
- ROBBINS J.H. -
Tissus culture studies of the human lymphocyte.
Science 1964, 146, 1648.
- ROBBINS J.H. -
Human Peripheral blood in tissue culture and the reaction
of PHA.
Experimentia, 1964, 20, 164.
- ROSS O., Mc INTYRE, COLE A.F. -
Variation in the response of normal lymphocytes to PHA.
Int. Arch. Allergy 1969, 35, 105-118.
- RUBIN A.D. and COOPER H.L. -
Evolving patterns of RNA metabolism during transition from
resting state to active growth in lymphocytes stimulated
by PHA.
Proc. Nat. Acad. Sci. 1965, 54, 467-469.
- RUBIN A.D. -
The human lymphocyte in short term tissue culture.
Post Graduate Med. 1967, 41, 244-251.
- SABBAH A. et MENARD E. -
Diagnostic de l'allergie médicamenteuse.
Le Concours Médical 1968, 14, 90, 50.

SABESIN S.M. -

Lymphocytes of small mammals : spontaneous transformation in culture to blastoids.

Science 1965, 149, 1385-1387.

SCHREK R. -

Cell transformation and mitoses produced in vitro by tuberculin purified protein derivative in human blood cells.

Amer. Rev. 1963, 87, 734.

SCHWEET R. et OWEN R.D. -

Concepts of protein synthesis in relation to antibody formation.

J. Cell. Comp. Physiol. 1957, 50, 199.

SHELLEY W.B. et JUHLIN L. -

A new test for detecting anaphylactic sensitivity by basophile reaction.

Nature Lond. 1961, 191, 1056-1058.

SHELLEY W.B. -

Indirect basophil de granulation test for allergy to penicillin and other drugs.

J. Am. Med. Ass. 1963, 184, 171.

SILK M.R. -

The effect of uremic plasma on lymphocyte transformation.

Investigate Urology, 1967, 5, 195-199.

SINGH V.N. and KOPPELMAN R. -

Relation ship between nuclear and cytoplasmic RNA.

Nature 1963, 198, 181-183.

SIRTORI C. -

Blastic transformation in leucocytes.

Lancet 1967, 215.

SOBORG M. -

In vitro detection of cellular hypersensitivity in man. Specific migration inhibition of white blood cells from brucella positive persons.

Acta Med. Scand. 1967, 182, 167-174.

SOBORG M. -

In vitro migration of peripheral human leucocytes in cellular hypersensitivity.

Act. Med. Scand. 1968, 184, 135-139.

- SOBORG et BENDIKEN G. -
Human lymphocyte migration as a parametres of hypersensitivity.
Acta Med. Scand. 1967, 181, 247.
- SPITTLER E., LAWRENCE A.S. -
Studies of lymphocyte culture ; products of sensitive lymphocyte antigene interaction.
The S. of immunology 1969, 103, 5, 1072-1077.
- STEFANI S. and OESTER Y.T. -
Effect of prednisolone on the PHA induced radio-resistance and blastoid. Transformation of human lymphocytes in vitro
Transpl. 1967, 5.
- TAYLOR J.H. -
The replication and organisation of DNA in chromosomes
molecular genetics.
New York Acad. Pressed. 1963.
- VASSAR P.S. and CULLING C.F.A. -
Cell Surface effects of PHA.
Nature, 1964, 202, 660-661.
- VISCHER T.L. -
Lymphocyte cultures in drug hypersensitivity.
Lancet 1966, 2, 467.
- WAKSMAN B.H., ARBOUYS S. and ARNASON B.G. -
The use of specific lymphocyte antisera to inhibit hypersensitive reaction of the delayed type.
J. Exp. Med. 1961, 114, 997.
- WALKER R.I. and FOWLER I. -
Granulocyte inhibition of human peripheral blood lymphocyte growth, in vitro.
Exp. Cell. Res. 1965, 38, 379-385.
- WEISS A. -
Skin window technic, a new diagnostic method in humoral allergy.
Smp. Allerg. 1967, Prague.
- WIDE L., BENNICH H., JOANSSON S.G.O. -
Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies.
Lancet 1967, 25, 1105-1107.

WINTER C.C.B. and YOFFEY J.M. -

Cytoplasme labelling with uridine 5^3H in human lymphocytes cultured with PHA.

Nature, 1965, 208, 1018.

WOLFROMM R., NATAF P. -

Méthodes d'accoutumance chez les sujets allergiques aux antibiotiques.

Presse Médicale 1966, 74, 239.

YASUKAZU, TANAKA M.D. and THOMAS J., LIDOLY M.D. -

Lipids and acid phosphatase in cultured lymphocytes of peripheral blood.

Use Depart. Heal. Ed. Weif. 1966, 15.

ZAALBERG O.B. -

A simple method for detecting single antibody - forming cells.

Nature (Lond.), 1964, 202, 1231.

T A B L E D E S M A T I E R E S

[illegible]

| | <u>Pages</u> |
|--|--------------|
| I - <u>INTRODUCTION</u> | 1 |
| II - <u>ETUDE CLINIQUE DE L'ALLERGIE</u>
<u>MEDICAMENTEUSE</u> | 4 |
| III- <u>ETUDE BIOLOGIQUE DE L'ALLERGIE</u>
<u>MEDICAMENTEUSE</u> | 11 |
| A) Antigénécité des médicaments | 11 |
| B) La réponse immunitaire | 14 |
| IV - <u>LES METHODES DE DETECTION DE</u>
<u>L'ALLERGIE MEDICAMENTEUSE</u> | 21 |
| V - <u>LE TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE..</u> | 29 |
| A) Historique | 29 |
| B) Etude cytologique optique | 31 |
| C) Etude cytologique ultrastructurale | 35 |
| D) Etude métabolique | 38 |
| E) Technique des T.T.L. | 41 |
| Discussion sur la technique | 48 |
| Conditions d'interprétation des
résultats | 51 |

| | <u>Pages</u> |
|---|--------------|
| VI - <u>RESULTATS</u> | 55 |
| - Allergie à la pénicilline | 56 |
| - Allergie à l'ampicilline | 60 |
| - Allergie à la céphalosporine | 61 |
| - Allergie au gardénal | 62 |
| - Allergie aux cyclines | 64 |
| - Allergie à la Novobiocine | 65 |
| - Allergie aux antituberculeux | 66 |
| - Allergie aux divers médicaments | 67 |
| - Discussion sur les résultats | 68 |
| VII - <u>CONCLUSIONS</u> | 72 |
| VIII- <u>BIBLIOGRAPHIE</u> | 75 |
